

Rec'd PCT/PTO 04 JAN 2005

CT/JPG3/03154

日本国特許庁  
JAPAN PATENT OFFICE

17.03.03

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出願年月日

Date of Application:

2002年 7月 5日

出願番号

Application Number:

特願2002-197560

[ST.10/C]:

[JP2002-197560]

出願人

Applicant(s):

日本たばこ産業株式会社  
シンジェンタ リミテッド

REC'D 09 MAY 2003

WIPO

PCT

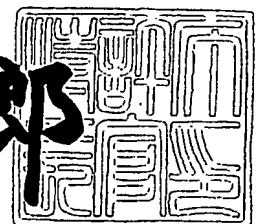
PRIORITY  
DOCUMENT

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2003年 4月22日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

太田信一郎



出証番号 出証特2003-3029419

BEST AVAILABLE COPY

【書類名】 特許願

【整理番号】 021379

【提出日】 平成14年 7月 5日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 C12N

【発明者】

【住所又は居所】 静岡県磐田郡豊田町東原700番地 株式会社オリノバ  
内

【氏名】 小森 俊之

【発明者】

【住所又は居所】 静岡県磐田郡豊田町東原700番地 株式会社オリノバ  
内

【氏名】 高倉 由光

【発明者】

【住所又は居所】 静岡県磐田郡豊田町東原700番地 株式会社オリノバ  
内

【氏名】 鈴木 庄一

【特許出願人】

【識別番号】 000004569

【氏名又は名称】 日本たばこ産業株式会社

【特許出願人】

【識別番号】 501008820

【氏名又は名称】 シンジェンタ リミテッド

【代理人】

【識別番号】 100089705

【住所又は居所】 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル2  
06区 ユアサハラ法律特許事務所

【弁理士】

【氏名又は名称】 社本 一夫

【電話番号】 03-3270-6641

【選任した代理人】

【識別番号】 100076691

【弁理士】

【氏名又は名称】 増井 忠武

【選任した代理人】

【識別番号】 100075270

【弁理士】

【氏名又は名称】 小林 泰

【選任した代理人】

【識別番号】 100080137

【弁理士】

【氏名又は名称】 千葉 昭男

【選任した代理人】

【識別番号】 100096013

【弁理士】

【氏名又は名称】 富田 博行

【選任した代理人】

【識別番号】 100107386

【弁理士】

【氏名又は名称】 泉谷 玲子

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 051806

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9814816

【包括委任状番号】 0105223

【プルーフの要否】 要



【書類名】 明細書

【発明の名称】 イネBT型雄性不稔細胞質に対する稔性回復遺伝子

【特許請求の範囲】

【請求項1】

配列番号75のアミノ酸配列、又は配列番号75のアミノ酸配列と少なくとも70%同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸をイネに導入することにより、イネの稔性を回復する方法。

【請求項2】

配列番号75のアミノ酸配列をコードする核酸をイネに導入することにより、イネの稔性を回復する、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

配列番号75のアミノ酸配列、又は配列番号75のアミノ酸配列と少なくとも70%同一のアミノ酸配列をコードする核酸が、以下のa) - j) の核酸から選択される、請求項1又は2に記載の方法：

- a) 配列番号69の塩基215-2587を含む核酸；
- b) 配列番号70の塩基213-2585を含む核酸；、
- c) 配列番号71の塩基218-2590を含む核酸；
- d) 配列番号72の塩基208-2580を含む核酸；
- e) 配列番号73の塩基149-2521を含む核酸；
- f) 配列番号74の塩基225-2597を含む核酸；
- g) 配列番号27の塩基43907-46279を含む核酸；
- h) 上記a) - g) のいずれかの核酸と少なくとも70%同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸；
- i) 上記a) - g) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のス 트리 ン ジ ェ ン ト な 条 件 下 で ハ イ ブ リ ダ イ ズ し、かつ、稔性回復機能を有する核酸；及び
- j) 上記a) - g) のいずれかの核酸に1ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸。

【請求項4】

配列番号75のアミノ酸配列、又は配列番号75のアミノ酸配列と少なくとも

70%同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸が、以下の条件1) - 6) の少なくとも一つを満たす、請求項3に記載の方法：

- 1) 配列番号69の塩基1769に相当する塩基がAである；
- 2) 配列番号70の塩基1767に相当する塩基がAである；
- 3) 配列番号71の塩基1772に相当する塩基がAである；
- 4) 配列番号72の塩基1762に相当する塩基がAである；
- 5) 配列番号73の塩基1703に相当する塩基がAである；又は
- 6) 配列番号74の塩基1779に相当する塩基がAである。

【請求項5】

配列番号75のアミノ酸配列、又は配列番号75のアミノ酸配列と少なくとも70%同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸を利用して被検定イネ個体又は種子が稔性回復遺伝子（Rf-1遺伝子）を有するか否かを識別する方法。

【請求項6】

以下のa) - j) の核酸：

- a) 配列番号69の塩基215-2587を含む核酸；
- b) 配列番号70の塩基213-2585を含む核酸；、
- c) 配列番号71の塩基218-2590を含む核酸；
- d) 配列番号72の塩基208-2580を含む核酸；
- e) 配列番号73の塩基149-2521を含む核酸；
- f) 配列番号74の塩基225-2597を含む核酸；
- g) 配列番号27の塩基43907-46279を含む核酸；
- h) 上記a) - g) のいずれかの核酸と少なくとも70%同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸；
- i) 上記a) - g) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のスリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、稔性回復機能を有する核酸；及び
- j) 上記a) - g) のいずれかの核酸に1ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸

のいずれかを利用する、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70% 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸が、以下の条件 1) - 6) の少なくとも一つを満たす場合に被検定イネ個体又は種子が Rf-1 遺伝子を有すると判断する、請求項 5 又は 6 に記載の方法：

- 1) 配列番号 69 の塩基 1769 に相当する塩基が A である；
- 2) 配列番号 70 の塩基 1767 に相当する塩基が A である；
- 3) 配列番号 71 の塩基 1772 に相当する塩基が A である；
- 4) 配列番号 72 の塩基 1762 に相当する塩基が A である；
- 5) 配列番号 73 の塩基 1703 に相当する塩基が A である；又は
- 6) 配列番号 74 の塩基 1779 に相当する塩基が A である。

【請求項 8】

i) 以下のいずれかの塩基、

- 1) 配列番号 69 の塩基 1769 に相当する塩基；
- 2) 配列番号 70 の塩基 1767 に相当する塩基；
- 3) 配列番号 71 の塩基 1772 に相当する塩基；
- 4) 配列番号 72 の塩基 1762 に相当する塩基；
- 5) 配列番号 73 の塩基 1703 に相当する塩基；及び
- 6) 配列番号 74 の塩基 1779 に相当する塩基

を含む隣接領域の塩基配列に基づいて、上記塩基と隣接領域の双方を増幅するようにプライマー対を作成し；

i i) 被検定イネ個体又は種子のゲノム DNA を鋳型として核酸増幅反応を行い；そして

i i i) 前記核酸増幅産物に見出される多型に基づいて被検定イネ個体又は種子が Rf-1 遺伝子の有無を識別する、請求項 6 又は 7 に記載の方法。

【請求項 9】

工程 i i i) が、以下の条件 1) - 6) の少なくとも一つを満たす場合に被検定イネ個体又は種子が Rf-1 遺伝子を有すると判断する、請求項 8 に記載の方

法：

- 1) 配列番号 69 の塩基 1769 に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない；
- 2) 配列番号 70 の塩基 1767 に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない；
- 3) 配列番号 71 の塩基 1772 に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない；
- 4) 配列番号 72 の塩基 1762 に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない；
- 5) 配列番号 73 の塩基 1703 に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない；又は
- 6) 配列番号 74 の塩基 1779 に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない。

【請求項 10】

配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70% 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸、に対し相補的な塩基配列から選択される、連続した少なくとも 100 塩基の長さのアンチセンスを導入することにより、R f - 1 遺伝子の稔性回復機能を抑制する方法。

【請求項 11】

配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70% 同一のアミノ酸配列をコードする核酸が、以下の a) - j) の核酸から選択される、請求項 10 に記載の方法：

- a) 配列番号 69 の塩基 215 - 2587 を含む核酸；
- b) 配列番号 70 の塩基 213 - 2585 を含む核酸；、
- c) 配列番号 71 の塩基 218 - 2590 を含む核酸；
- d) 配列番号 72 の塩基 208 - 2580 を含む核酸；
- e) 配列番号 73 の塩基 149 - 2521 を含む核酸；
- f) 配列番号 74 の塩基 225 - 2597 を含む核酸；

g) 配列番号 27 の塩基 43907-46279 を含む核酸；

h) 上記 a) - g) のいずれかの核酸と少なくとも 70% 同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸；

i) 上記 a) - g) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のス 트리 ン ジ ェ ン ト な条件下でハイブリダイズし、かつ、稔性回復機能を有する核酸；及び

j) 上記 a) - g) のいずれかの核酸に 1 ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸。

【請求項 12】

配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70% 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸。

【請求項 13】

以下の a) - j) の核酸から選択される、請求項 11 に記載の核酸：

a) 配列番号 69 の塩基 215-2587 を含む核酸；

b) 配列番号 70 の塩基 213-2585 を含む核酸；、

c) 配列番号 71 の塩基 218-2590 を含む核酸；

d) 配列番号 72 の塩基 208-2580 を含む核酸；

e) 配列番号 73 の塩基 149-2521 を含む核酸；

f) 配列番号 74 の塩基 225-2597 を含む核酸；

g) 配列番号 27 の塩基 43907-46279 を含む核酸；

h) 上記 a) - g) のいずれかの核酸と少なくとも 70% 同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸；

i) 上記 a) - g) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のス 트리 ン ジ ェ ン ト な条件下でハイブリダイズし、かつ、稔性回復機能を有する核酸；及び

j) 上記 a) - g) のいずれかの核酸に 1 ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、イネBT型雄性不稔細胞質に対する稔性回復遺伝子に関する。

【0002】

【従来の技術】

イネは自殖性植物であるため、品種間で交雑を行う場合には、まず自家受精を避けるためにイネの穎花が開花する直前に穎花内の雄しべを全て取り除き、次いで交雑をする花粉親品種由来の花粉を用いて受精させる必要がある。しかしながら、このような手作業による交雑方法で商業的規模での大量の雑種種子を生産することは不可能である。

【0003】

そこで、ハイブリッドライスの生産には、細胞質雄性不稔を利用する三系法が利用されている。三系法とは、雄性不稔細胞質を保有する系統である不稔系統、Rf-1遺伝子を保有する系統である回復系統、および核遺伝子は不稔系統と同一であって不稔細胞質を保有しない系統である維持系統とを使用する方法をいう。これらの3系統を用いて、(i) 不稔系統に回復系統の花粉を受精させることによりハイブリッド種子を獲得することができ、(ii) 一方、不稔系統に維持系統の花粉を受精させることにより不稔系統を維持することができる。

【0004】

三系法でBT型雄性不稔細胞質を利用するにあたっては、回復系統のイネを育成するために、育種における各過程で育成中のイネがRf-1遺伝子を保有すること、また、最終段階ではRf-1遺伝子をホモで保有することを確認する必要がある。また、三系法において、回復系統に使用する品種が確実にRf-1遺伝子を保有することを調べたり、得られたハイブリッド種子が稔性を回復しているか確認するために、Rf-1遺伝子の存在を調べる必要が生じる場合もある。

【0005】

従来、植物体中でのRf-1遺伝子座の遺伝子型を推定するためには、まず、検定系統と交配を行った交配種子から植物体(F1)を形成し、次いでF1植物を自殖させてその種子の形成率が一定以上(例えば70~80%以上)である個体の出現頻度を調査する必要があった。なお、検定系統とは、維持系統、不稔系統あるいは両系統のセットを指し、目的とする被検定個体の細胞質がBT型か通

常細胞質か、あるいは不明かにより適宜選択するものである。不稔系統を検定系統として用いる場合は母親として、維持系統を検定系統として用いる場合は父親として、それぞれ被検定個体に交配する。

#### 【0006】

しかしながら、これらの方法を行うには、莫大な労力と時間を要する。また、種子稔性は、環境要因の影響を受けやすいので、低温・日照不足などの不良環境で調査すれば、遺伝子型の構成によらず不稔になる場合があり、Rf-1遺伝子座の遺伝子型推定が正確に行えないという問題を有していた。

#### 【0007】

このような問題を解消するために、最近では、分子生物学的方法によりRf-1遺伝子の存在を判別する方法も提案されている。それは、Rf-1遺伝子と連鎖する塩基配列（以下、DNA マーカーという）を検出することにより、Rf-1遺伝子の存在または不存在を調べる方法である。因みに、Rf-1遺伝子のDNA配列は未解読であるため、直接Rf-1遺伝子を検出することは、現在の技術では不可能であった。

#### 【0008】

例えば、イネのRf-1遺伝子座は第10染色体上に存在し、そして、制限酵素断片長多型（RFLP）解析に使用することができるDNAマーカー（RFLPマーカー）座G291とG127との間であることが報告されている（Fukuta et al. 1992, Jpn J. Breed. 42 (supl. 1) 164-165）。このため、Rf-1遺伝子と連鎖するDNAマーカー座G291およびG127の遺伝子型を調査することにより、Rf-1遺伝子座の遺伝子型を推定することが可能である。

#### 【0009】

しかしながら、従来の分子生物学的方法にはいくつかの問題が存在する。第一の問題は、従来の方法では、使用するマーカーがRFLPマーカーであり、これを検出するためにはサザンブロット解析を行う必要があるという点である。サザンブロット解析を行うためには、被検定個体から数マイクログラム単位の精製されたDNAを必要とし、さらに制限酵素処理、電気泳動、ブロッティング、プロ

ープとのハイブリダイゼーション、およびシグナルの検出からなる一連の作業手順を行う必要があるため、多大な労力が必要であるうえに、検定結果を得るまでに1週間程度かかっていた。

#### 【0010】

第二の問題は、RFLPマーカー座G291とG127の間の遺伝子地図距離は約30 cM（イネDNAでは約9000 kbpに相当する）と長いため、二重組換えが起こる可能性が数%程度はあると考えられ、Rf-1遺伝子座の遺伝子型が必ずしも正確に推定できないことである。

#### 【0011】

さらに第三の問題は、Rf-1遺伝子の存在をRFLPマーカー座G291およびG127の遺伝子型を調査することにより推定する場合、選抜の結果育成される稔性回復系統には、Rf-1遺伝子と共に、RFLPマーカー座G291とG127の間の遺伝子領域も導入されるという点である。その結果、導入DNA配列は30 cM以上のRf-1遺伝子ドナー親由来の染色体領域を有することになり、導入DNA領域中に存在する可能性がある劣悪遺伝子をRf-1遺伝子と同時に導入してしまう危険性があった。

#### 【0012】

このような問題を解決するため、Rf-1遺伝子座と連鎖する優性DNAマーカー（特開平7-222588）および共優性DNAマーカー（特開平9-313187）が開発されている。これらのマーカーは、Rf-1遺伝子座とそれぞれ、 $1.6 \pm 0.7$  cM（イネDNAでは約480 kbpに相当）および $3.7 \pm 1.1$  cM（イネDNAでは約1110 kbpに相当）の遺伝的距離で連鎖しており、両座はRf-1遺伝子座を挟む位置関係にある。そのため、優性PCRマーカー座および共優性PCRマーカー座は、これらが両方とも存在することを検出することにより、Rf-1遺伝子の存在を推定することができる。また、共優性PCRマーカーの使用は、Rf-1遺伝子座の遺伝子型がホモかヘテロかも推定することを可能にする。

#### 【0013】

しかしながら、これらのPCRマーカーを使用する場合にも、依然としていく



つかの問題がある。この共優性マーカーは  $Rf-1$  遺伝子座と  $3.7 \pm 1.1$  cM の遺伝距離を有するため、 $Rf-1$  遺伝子座との間での組換え頻度が高いという問題が十分には解決されていない。その結果、共優性マーカー自体についてはホモ型またはヘテロ型まで正確に検出することができるが、共優性マーカー座と  $Rf-1$  遺伝子座との間で組換えが生じる場合に、 $Rf-1$  遺伝子座の遺伝子型の推定、特にホモ型またはヘテロ型までの推定を正確に実施できないという問題がある。一方、優性マーカーを使用して  $Rf-1$  遺伝子座の遺伝子型を推定する場合、優性マーカーでは  $Rf-1$  遺伝子がホモの個体 ( $Rf-1/Rf-1$ ) およびヘテロの個体 ( $Rf-1/rf-1$ ) の両方を区別することなく検出してしまふ。そのため、上記共優性マーカーと優性マーカーとを組み合わせを利用して  $Rf-1$  遺伝子座の遺伝子型を推定したとしても、 $Rf-1$  遺伝子に関するホモ型とヘテロ型とを正確に識別することはできない。また、優性マーカーを用いて行う PCR では、PCR 産物が得られなかった場合には、実験操作上の問題に起因する可能性も否定できない。さらに、これらの共優性マーカーと優性マーカーとの間の遺伝的距離が約  $5.3$  cM (約  $1590$  kbp) と離れているため、 $Rf-1$  遺伝子ドナー親からの導入染色体領域長を短い長さに限定することができないので、この領域中に含まれる劣悪遺伝子の持ち込みを抑制できないという問題点も有している。

#### 【0014】

さらに、特開 2000-139465 には、イネ第 10 染色体の  $Rf-1$  遺伝子の近傍に座乗する RFLP マーカーの塩基配列に基づいて開発された、共優性 PCR マーカーが記載されている。しかしながら、それらの PCR マーカーは、依然として  $Rf-1$  遺伝子からの遺伝的距離が約  $1$  cM より離れているという問題を有している。

#### 【0015】

##### 【発明が解決しようとする課題】

本発明は、イネの稔性を回復する方法を提供することを目的とする。本発明の方法は、配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70% 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有

する核酸をイネに導入する、ことを含む。本発明の方法の、好ましい一態様において、配列番号75のアミノ酸配列、又は配列番号75のアミノ酸配列と少なくとも70%同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸は、以下のa) - j) の核酸から選択される：

- a) 配列番号69の塩基215-2587を含む核酸；
- b) 配列番号70の塩基213-2585を含む核酸；、
- c) 配列番号71の塩基218-2590を含む核酸；
- d) 配列番号72の塩基208-2580を含む核酸；
- e) 配列番号73の塩基149-2521を含む核酸；
- f) 配列番号74の塩基225-2597を含む核酸；
- g) 配列番号27の塩基43907-46279を含む核酸；
- h) 上記a) - g) のいずれかの核酸と少なくとも70%同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸；
- i) 上記a) - g) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のスリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、稔性回復機能を有する核酸；及び
- j) 上記a) - g) のいずれかの核酸に1ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸。

#### 【0016】

本発明の方法において、上記配列番号75のアミノ酸配列、又は配列番号75のアミノ酸配列と少なくとも70%同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸は、好ましくは、以下の条件1) - 6) の少なくとも一つを満たす：

- 1) 配列番号69の塩基1769に相当する塩基がAである；
- 2) 配列番号70の塩基1767に相当する塩基がAである；
- 3) 配列番号71の塩基1772に相当する塩基がAである；
- 4) 配列番号72の塩基1762に相当する塩基がAである；
- 5) 配列番号73の塩基1703に相当する塩基がAである；又は
- 6) 配列番号74の塩基1779に相当する塩基がAである。

#### 【0017】

本発明はまた、上記配列番号75のアミノ酸配列、又は配列番号75のアミノ酸配列と少なくとも70%同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸を利用して、被検定イネ個体又は種子がRf-1遺伝子を有するか否かを識別する方法を提供することを目的とする。本発明の方法は、一態様において、好ましくは、配列番号75のアミノ酸配列、又は配列番号75のアミノ酸配列と少なくとも70%同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸が、以下の条件1) - 6) の少なくとも一つを満たす場合に被検定イネ個体又は種子がRf-1遺伝子を有すると判断する：

- 1) 配列番号69の塩基1769に相当する塩基がAである；
- 2) 配列番号70の塩基1767に相当する塩基がAである；
- 3) 配列番号71の塩基1772に相当する塩基がAである；
- 4) 配列番号72の塩基1762に相当する塩基がAである；
- 5) 配列番号73の塩基1703に相当する塩基がAである；又は
- 6) 配列番号74の塩基1779に相当する塩基がAである。

#### 【0018】

本発明は、さらに、Rf-1遺伝子の稔性回復機能を抑制する方法を提供することを目的とする。本発明の抑制方法は、一態様において、配列番号75のアミノ酸配列、又は配列番号75のアミノ酸配列と少なくとも70%同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸、に対し相補的な塩基配列から選択される、連続した少なくとも100塩基の長さのアンチセンスを導入する、ことを含む。

#### 【0019】

本発明はさらにまた、配列番号75のアミノ酸配列、又は配列番号75のアミノ酸配列と少なくとも70%同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸、を提供することを目的とする。本発明は、一態様において、以下のa) - j)

- a) 配列番号69の塩基215-2587を含む核酸；
- b) 配列番号70の塩基213-2585を含む核酸；、
- c) 配列番号71の塩基218-2590を含む核酸；

- d) 配列番号72の塩基208-2580を含む核酸；
  - e) 配列番号73の塩基149-2521を含む核酸；
  - f) 配列番号74の塩基225-2597を含む核酸；
  - g) 配列番号27の塩基43907-46279を含む核酸；
  - h) 上記a) - g) のいずれかの核酸と少なくとも70%同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸；
  - i) 上記a) - g) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のスリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、稔性回復機能を有する核酸；及び
  - j) 上記a) - g) のいずれかの核酸に1ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸
- から選択される核酸を提供する。

【0020】

## 【課題を解決するための手段】

本発明者らは、まず、Rf-1の存在部位を第10染色体上の極めて狭い範囲に特定した。その結果に基づいて、Rf-1遺伝子座の近傍に存在するPCRマーカーを開発し、これらのPCRマーカーが、Rf-1遺伝子座と連鎖することを利用して、Rf-1遺伝子を検出する方法が見出された。具体的には、Rf-1遺伝子座が、イネ第10染色体上に存在するPCRマーカー座S12564 Tsp509I座とC1361 MwoI座との間に座乗することを利用して、近傍に存在する新規のPCRマーカー座の遺伝子型を調査することにより、Rf-1遺伝子の有無の調査およびRf-1遺伝子ホモ型個体の選抜を実施する。当該Rf-1遺伝子を検出する方法につき、本発明者らは、平成12年8月17日に特願2000-247204として特許出願を行っている。当該出願の全内容は参考文献として本明細書に援用される。

【0021】

# I. 特願2000-247204に記載のRf-1遺伝子座の遺伝子型を推定する方法

特願2000-247204は、Rf-1遺伝子座がイネ第10染色体上のRFLPマーカー座S12564座とC1361座との間に座乗することを利用し

て、被検定イネ個体または種子がRf-1遺伝子を持つか否かを識別する方法について記載している。

# 【0022】

## マーカー

Rf-1遺伝子座の近傍に存在する特定の領域に対して設計したプライマー対を用いてPCRを行い、その産物を特定の制限酵素で処理後電気泳動にかけると、ジャポニカ系統とインディカ系統との間で、異なる大きさのバンドが観察されることがある。そのような場合、インディカ系統に特徴的なバンドをRf-1連鎖バンドとする。本発明者らにより、Rf-1遺伝子座は、イネ第10染色体上に存在するPCRマーカー座S12564 Tsp509I座とC1361 MwoI座との間に座乗することが明らかにされ、その周辺でのPCRマーカーは当業者が適宜開発して使用可能となった。

# 【0023】

例えば、下記の群から選択されるPCRマーカーの少なくとも1個を被検体イネのゲノム中に存在するか否か検出することにより、被検定個体がこれらのPCRマーカーと連鎖するRf-1遺伝子を持つか否かを識別する：

(1) マーカー1： 配列番号1および配列番号2の配列を有するDNAをプライマーとして用いてゲノミックPCRを行い、得られた産物中の、制限酵素EcoRI認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、PCRマーカーR1877 EcoRI；

(2) マーカー2： 配列番号3および配列番号4の配列を有するDNAをプライマーとして用いてゲノミックPCRを行い、得られた産物中の、制限酵素HindIII認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、PCRマーカーG4003 HindIII（配列番号19）；

(3) マーカー3： 配列番号5および配列番号6の配列を有するDNAをプライマーとして用いてゲノミックPCRを行い、得られた産物中の、制限酵素MwoI認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、PCRマーカーC1361 MwoI（配列番号20）；

(4) マーカー4 : 配列番号7および配列番号8の配列を有するDNAをプライマーとして用いてゲノミックPCRを行い、得られた産物中の、制限酵素Mwo I 認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、PCRマーカーG2155 Mwo I (配列番号21) ;

(5) マーカー5 : 配列番号9および配列番号10の配列を有するDNAをプライマーとして用いてゲノミックPCRを行い、得られた産物中の、制限酵素Msp I 認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、PCRマーカーG291 Msp I (配列番号22) ;

(6) マーカー6 : 配列番号11および配列番号12の配列を有するDNAをプライマーとして用いてゲノミックPCRを行い、得られた産物中の、制限酵素Bsl I 認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、PCRマーカーR2303 Bsl I (配列番号23) ;

(7) マーカー7 : 配列番号13および配列番号14の配列を有するDNAをプライマーとして用いてゲノミックPCRを行い、得られた産物中の、制限酵素Bst UI 認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、PCRマーカーS10019 Bst UI (配列番号24) ;

(8) マーカー8 : 配列番号15および配列番号16の配列を有するDNAをプライマーとして用いてゲノミックPCRを行い、得られた産物中の、制限酵素Kpn I 認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、PCRマーカーS10602 Kpn I (配列番号25) ;および

(9) マーカー9 : 配列番号17および配列番号18の配列を有するDNAをプライマーとして用いてゲノミックPCRを行い、得られた産物中の、制限酵素Tsp 509 I 認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、PCRマーカーS12564 Tsp 509 I (配列番号26) 。

【0024】

なお、上記PCRマーカーは、Rf-1遺伝子座が、イネ第10染色体上の9個のRFLPマーカー領域R1877、G291、R2303、S12564、C1361、S10019、G4003、S10602、およびG2155付近に座乗する可能性が高いと考え（Fukuta et al. 1992, Jpn J. Breed. 42 (supl. 1) 164-165によるRFLP連鎖解析結果、およびHarushima et al. 1998, Genetics 148 479-494によるイネRFLP連鎖地図を参照）、これらのRFLPマーカーを、後記参考例1に記載するようにして、共優性PCRマーカーであるCAPSマーカーまたはdCAPSマーカー（Michaels and Amasino 1998, The Plant Journal 14 (3) 381-385; Neff et al. 1998, The plant Journal 14 (3) 387-392）に変換した。この変換により、上記PCRマーカーが得られた。

#### 【0025】

これらのPCRマーカーのうち、PCRマーカーR1877 EcoRI、G291 MspI（配列番号22）、R2303 BslI（配列番号23）およびS12564 Tsp509I（配列番号26）からなる群と、PCRマーカーC1361 MwoI（配列番号20）、S10019 BstUI（配列番号24）、G4003 HindIII（配列番号19）、S10602 KpnI（配列番号25）、およびG2155 MwoI（配列番号21）からなる群とは、第10染色体上でRf-1遺伝子座を挟んで反対側に存在する。

#### 【0026】

従って、一態様において、（a）PCRマーカーR1877 EcoRI、G291 MspI、R2303 BslIおよびS12564 Tsp509Iからなる群から選択される少なくとも1個のPCRマーカー、並びに（b）PCRマーカーC1361 MwoI、S10019 BstUI、G4003 HindIII、S10602 KpnI、およびG2155 MwoIからなる群から選択される少なくとも1個のPCRマーカーによりRf-1連鎖バンドを検出することにより、Rf-1遺伝子の存在を検出する。その際、上記（a）の

群から Rf-1 遺伝子に最も近いマーカーとして、少なくとも PCR マーカー S12564 Tsp509I および上記 (b) の群から少なくとも C1361 MwoI を使用することが好ましい。被検定イネのゲノム中に、(a) の PCR マーカーによる Rf-1 連鎖バンドと (b) の PCR マーカーによる Rf-1 連鎖バンドの両方が検出されれば、そのイネが Rf-1 遺伝子を有する可能性を高い確率で推定することができる。

#### 【0027】

別の態様においては、上記 (a) の群から少なくとも二つの PCR マーカー、及び (b) の群から少なくとも二つの PCR マーカーにより Rf-1 連鎖バンドを検出する。例えば、(a) 及び (b) の群のマーカーのうち、図 1 に示す遺伝子地図において、Rf-1 遺伝子により近いマーカーにより Rf-1 連鎖バンドが検出され、それより Rf-1 遺伝子から遠いマーカーにより Rf-1 連鎖バンドが検出されないイネ個体を選抜することにより、Rf-1 遺伝子を有するが、不要な遺伝子領域をできるだけ含まないイネを選抜することが可能である。この場合も、(a) 及び (b) の各群のマーカーのうち少なくとも一つは、それぞれ PCR マーカー S12564 Tsp509I および C1361 MwoI であることが好ましい。すなわち、2 種の PCR マーカー座 S12564 Tsp509I と C1361 MwoI は、マーカー座間距離にして 0.3 cM 離れている。この性質を利用することにより、Rf-1 遺伝子ドナー親から導入する染色体領域を 1 cM 程度に狭めることができる。その結果、ドナー親の Rf-1 遺伝子近傍に存在する可能性がある劣悪遺伝子が回復系統に導入される可能性を最小限に抑えることができる。

#### 【0028】

##### Rf-1 遺伝子の検出

被検定イネゲノム中の Rf-1 遺伝子を検出するには、上記配列番号 1-18 のプライマーを用いて、被検定イネゲノムから上記 PCR マーカーのいずれかを PCR で増幅させ、ポリメラーゼ連鎖反応-制限酵素断片長多型 (PCR-RFLP) 法で検出する。PCR-RFLP 法は、比較する品種系統間において、PCR により増幅した DNA 断片配列中の制限酵素認識部位に多型が存在する場合



に、その制限酵素による切断パターンからいずれの型であるかを簡便に決定する方法である (D. E. Harry, et al., Theor Appl Genet (1998) 97:327-336)。

【0029】

制限酵素による切断パターンとしては、可視化されたゲル上に、使用したプライマー対に応じて、以下の表1のようなバンドの存在の有無が確認される。

【0030】

【表1】

-----	
	検出されるバンドの おおよそのサイズ (bp)
-----	
プライマー対1によるマーカー1の検出 (R1877 EcoRI)	
被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合:	1500及び1700
被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合:	1500、1700及び3200
被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合:	3200
-----	
プライマー対2によるマーカー2の検出 (G4003 HindIII)	
被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合:	362
被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合:	95、267及び362
被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合:	95及び267
-----	
プライマー対3によるマーカー3の検出 (C1361 MwoI)	
被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合:	50及び107
被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合:	25、50、79及び107
被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合:	25、50及び79
-----	
プライマー対4によるマーカー4の検出 (G2155 MwoI)	
被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合:	25、27及び78

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合： 25、27、78及び105

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合： 25及び105

-----  
プライマー対5によるマーカー5の検出 (G291 MspI)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合： 25、49及び55

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合： 25、49、55及び104

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合： 25及び104

-----  
プライマー対6によるマーカー6の検出 (R2303 BslI)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合： 238、655及び679

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合： 238、655、679  
及び1334

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合： 238及び1334

-----  
プライマー対7によるマーカー7の検出 (S10019 BstUI)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合： 130、218及び244

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合： 130、218、244  
及び462

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合： 130及び462

-----  
プライマー対8によるマーカー8の検出 (S10602 KpnI)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合： 724

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合： 117、607及び724

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合： 117及び607

-----  
プライマー対9によるマーカー9の検出 (S12564 Tsp509I)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合： 41及び117

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合： 26、41、91及び117

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合： 26、41及び91

【0031】

II. Rf-1 遺伝子座領域の特定

以上、特願2000-247204において、Rf-1 遺伝子座がDNAマーカー座S12564 Tsp509IとC1361 MwoI座との間に座乗することが本発明者らにより明らかにされ、これを利用したRFLP-PCR用マーカーが記載されている。Rf-1 遺伝子を持たない通常のジャポニカ品種に、戻し交雑によりRf-1 遺伝子を導入することにより回復系統が育成される。その過程で、特願2000-247204に記載のRf-1 遺伝子座の識別方法を用いると、回復系統の育成が効率的（必要期間は2～3年）になるだけでなく、導入断片長を制御することができる。

【0032】

しかしながら、交雑による導入では、Rf-1 極近傍領域をも同時に導入することは避けられない。特願2000-247204において、Rf-1 遺伝子座がDNAマーカー座S12564 Tsp509IとC1361 MwoI座との間に座乗することが解明されたが、両遺伝子座は約0.3 cM、即ち約90 kbである。仮にRf-1 極近傍に劣悪遺伝子が存在すれば、Rf-1 遺伝子とともにその劣悪遺伝子も導入される可能性が否定できない。

【0033】

そこで、本発明者らはDNAマーカー座S12564 Tsp509IとC1361 MwoI座の間の領域について、Rf-1 遺伝子座とDNAマーカー座S12564 Tsp509Iとが密接連鎖することを手がかりに、染色体歩行および遺伝学的解析を行うことにより、Rf-1 遺伝子と連鎖する領域を調べた。その結果、Rf-1 遺伝子を含むRf-1 遺伝子座領域を約76 kbまで特定し、そして当該領域の全塩基配列を決定することに成功した。本発明により、BT型雄性不稔細胞質に対する稔性回復遺伝子の機能を遺伝子工学的に導入することが可能となった。

【0034】

具体的には、特願2000-247204では、MSコシヒカリにMS-FR

コシヒカリ (Rf-1 座ヘテロ) の花粉をかけて作成した集団 1042 個体を用いて連鎖分析を行い、Rf-1 座と S12564 Tsp509I 座との間での組換え個体を 1 個体、Rf-1 座と C1361 MwoI 座との間での組換え個体を 2 個体見出した (本明細書中の参考例 1-2)。本発明では、上記集団をさらに 4103 個体追加し、合計 5145 個体として解析を行った。その結果、新たに、Rf-1 座と S12564 Tsp509I 座との間での組換え個体を 1 個体、Rf-1 座と C1361 MwoI 座との間での組換え個体を 6 個体見出し、それぞれの組換え個体の合計を 2 個体および 8 個体とした。これら 10 個体を Rf-1 座極近傍組換え個体として、本発明の高精度分離分析に供試することとした (実施例 1)。

## 【0035】

Rf-1 座と S12564 Tsp509I 座との間での組換え個体が 2 個体に対し、C1361 MwoI 座との間での組換え個体が 8 個体という上記の組換え個体出現頻度は、S12564 Tsp509I 座と C1361 MwoI 座とを比較すると、S12564 Tsp509I 座のほうが遺伝学的に Rf-1 座に近いことを意味する。遺伝的距離 (組換え価 cM が単位) と物理的距離 (塩基対数 bp が単位) とは必ずしも比例しないが、通常は遺伝的距離が短ければ物理的距離も短いと期待できる。

## 【0036】

そこで、S12564 Tsp509I 座を起点に染色体歩行を行うことにより、Rf-1 座を単離することとした (実施例 2)。染色体歩行には、インディカ品種 IR24 およびジャポニカ品種あそみのりのゲノム DNA を用いて  $\lambda$  DASH II ベクターにより作成したゲノミックライブラリーを供試した。IR24 は Rf-1 保有品種、あそみのは Rf-1 非保有品種である。染色体歩行を進めた結果、IR24 のゲノミッククローンにより約 76 kb の染色体領域をカバーするコンティグ (複数のクローンを重複部分で重ね合わせて染色上での順に整列化したもの) を作成することができ、その全塩基配列 (76363 bp) を決定した。

## 【0037】

次いで、得られた塩基配列情報等を利用することにより、新たに12個のマーカーを開発し、既述のRf-1座極近傍組換え個体10個体を用いて、高精度分離分析を行った（実施例3）。その結果、上記の約76kbの染色体領域に含まれる65kbの配列がRf-1遺伝子の機能の有無を決定する配列を包含することが示された。この領域は、8個のゲノミッククローンから構成されるコンティグによりカバーされている。各クロンの長さは、約12～22kbであり少なくとも4.7kbの重複部を持つ。一方、イネの遺伝子の長さについては、短いものから長いものまでであることが知られているが、大部分の遺伝子は数kb以内であると考えられる。そのため、これら8個のゲノミッククロンのうち、少なくともひとつは完全長のRf-1遺伝子を包含すると予測される。

## 【0038】

本発明者らはさらに、上記76kbの染色体領域のうち、Rf-1遺伝子領域をさらに絞り込むと共に、稔性回復能の存在を直接的に証明するために、相補性試験を行った。

## 【0039】

具体的には、雄性不稔系統であるMSコシヒカリの未熟種子に、上記76kb領域内の10個の部分断片（各10～21kb）を、別々に遺伝子工学的に導入した（図5）。使用された10個の部分断片のうち、8個は先に染色体歩行で得られた8個のゲノミッククローン（図1、実施例3に記載のXSE1、XSE7、XSF4、XSF20、XSG22、XSG16、XSG8及びXSH18）に由来するものである。これらに加えて、さらに2個のクローンXSF18およびXSX1に由来する断片についても相補性試験を行った。XSF18はXSF20と5'末端及び3'末端（各々、配列番号27の塩基20328及び41921）が同一だが、途中の塩基33947-38591を欠いている。これは、最初にクローンXSF18が単離されたが、単離後の増殖の過程で上記欠失を生じたことが判明したため、再度増殖をやり直すことにより、完全型のクローンを単離し、XSF20と命名したことによる（実施例8）。また、XSX1は、クローンXSG8とXSH18の重複部分がやや小さいため（約7kb）、制限酵素処理およびライゲーションにより両クローンから、重複部分を十分に含むよう

なクローンを新たに作成したものである（実施例13）。

【0040】

Rf-1は優性遺伝子であるので、導入した断片がRf-1遺伝子を完全に包含している場合には、形質転換植物当代において稔性が回復する。相補性試験において、各断片について形質転換植物の種子稔性調査を行い、λファージクローンXSG16に由来する15.6kb断片（配列番号27の塩基38538-54123を含む）を導入した形質転換体において、種子稔性が回復していることが見出された（実施例10）。他の断片については、形質転換植物はすべて不稔であった。これらの結果から、上記15.6kb断片がRf-1遺伝子を完全に包含していることが示された。さらに、本発明により、Rf-1遺伝子を遺伝子工学的に導入する方法が提供され、その有効性が実証された。

【0041】

本発明者は、λファージクローンXSG16のどの部分がRf-1遺伝子を含むかをさらに特定するために、前述の15.6kb断片（配列番号27の塩基38538-54123を含む）よりも短い断片について相補性試験による種子稔性調査を行った。その結果、XSG16に由来する11.4kb断片（配列番号27の塩基42357-53743を含む）を導入した形質転換体において、種子稔性が回復していることが見出された（実施例10（2））。さらに、より短い6.8kb断片（配列番号27の塩基42132-48883を含む）を導入した形質転換体においても、種子稔性が回復した（実施例10（3））。これらの結果から、上記6.8kb断片がRf-1遺伝子を包含していることが示された。

【0042】

本発明者らは、さらに研究をすすめ、稔性回復機能を有する核酸を特定し、それによってコードされるアミノ酸配列も明らかとなった。具体的には、実施例14-15に記載したように、まず、配列番号27の43733-44038及び48306-50226に相当するDNAをDNA断片をPCRを用いて作成した。これらの2種の断片をプローブ（プローブP及びQ）として、コシヒカリにRf-1を導入した系統より作成したcDNAをライブラリーをスクリーニング

した。その結果、6個のクローンの末端塩基配列がXSG16の配列と一致し、Rf-1遺伝子を含むクローンとして単離され、塩基配列が解析された（配列番号69-74）。

#### 【0043】

配列番号69-74のいずれの配列も、配列番号75のアミノ酸配列1-791を持つタンパク質をコードする。具体的には、各々配列番号69の塩基215-2587、配列番号70の塩基213-2585、配列番号71の塩基218-2590、配列番号72の塩基208-2580、配列番号73の塩基149-2521及び配列番号74の塩基225-2597が、いずれも配列番号75のアミノ酸配列1-791をコードする。なお上記塩基配列は、配列番号27の塩基43907-46279に対応する。

#### 【0044】

配列番号75のアミノ酸配列を、トウモロコシの稔性回復遺伝子（Rf2）の推定アミノ酸配列（Cui et al., 1996）と比較したところ、N末端の7アミノ酸残基（Met-Ala-Arg-Arg-Ala-Ala-Ser）が一致した。これら7アミノ酸残基はミトコンドリアへの標的化シグナルの一部と考えられている（Liu et al., 2001）。これらのことから、今回単離したcDNAはRf-1遺伝子のコーディング領域を完全に包含すると考えられる。イネRf-1とトウモロコシRf2とのアミノ酸レベルでの相同性は、前述の領域を除いては見られない。

#### 【0045】

また、今回単離したcDNAの配列をIR24のゲノム配列（配列番号27）と比較し、Rf-1遺伝子のエキソンとイントロンの構造を明らかにした（図7）。その結果、植物体内において、スプライシング様式およびポリA付加位置を異にする種々の転写産物が混在していることが示された。Rf-1遺伝子のコード領域内には、イントロンは介在しない。

#### 【0046】

### III. Rf-1遺伝子座を含む核酸

本発明は、稔性回復遺伝子（Rf-1）座を含む核酸を提供する。

本発明の稔性回復遺伝子 (Rf-1) 座を含む核酸は、配列番号 27 の塩基配列を有する核酸、又は配列番号 27 の塩基配列と少なくとも 70% 同一の塩基配列であって、稔性回復機能を有する核酸を含む。さらに、実施例 10 に記載したように、配列番号 27 の塩基配列のうち、特に塩基 38538-54123 に Rf-1 遺伝子が完全に含まれていると確認された。Rf-1 遺伝子を含む領域はさらに、好ましくは、配列番号 27 の塩基 38538-54123、より好ましくは、塩基 42357-53743、さらに好ましくは、塩基 42132-48883 と特定された。

## 【0047】

本発明者らはさらに、研究を進め、Rf-1 遺伝子を含む核酸として以下の領域を特定した。

- a) 配列番号 69 の塩基 215-2587、
- b) 配列番号 70 の塩基 213-2585、
- c) 配列番号 71 の塩基 218-2590、
- d) 配列番号 72 の塩基 208-2580、
- e) 配列番号 73 の塩基 149-2521 及び
- f) 配列番号 74 の塩基 225-2597。

## 【0048】

上記塩基配列は、g) 配列番号 27 の塩基 43907-46279 に対応し、そして、いずれも配列番号 75 のアミノ酸配列 1-791 をコードする。

以下、本明細書中、文脈により「配列番号 27 の塩基配列」という用語は、配列番号 27 全体、あるいは、その一部であって稔性回復機能に関与する部分、特に、塩基 38538-54123 を示す。より好ましくは、塩基 42357-53743、さらに好ましくは、塩基 42132-48883 を示す。そして、特に好ましくは、g) 配列番号 27 の塩基 43907-46279、あるいは、これに対応する、a) 配列番号 69 の塩基 215-2587、b) 配列番号 70 の塩基 213-2585、c) 配列番号 71 の塩基 218-2590、d) 配列番号 72 の塩基 208-2580、e) 配列番号 73 の塩基 149-2521 又は f) 配列番号 74 の塩基 225-2597 のいずれかを示す。



## 【0049】

後述する実施例では、稔性回復遺伝子 (Rf-1) を含む核酸として、Rf-1 遺伝子を含むインディカ米の IR24 のゲノムライブラリーより核酸が単離され、配列番号 27 の塩基配列が決定された。しかしながら、本発明の、稔性回復遺伝子 (Rf-1) を含む核酸の由来は、Rf-1 遺伝子を有するインディカ型品種由来のものであれば特に限定されない。Rf-1 遺伝子を有するインディカ型品種は、特に限定されず、例えば、IR24、IR8、IR36、IR64、Chinsurah、Boro II が含まれる。Rf-1 遺伝子を有しないジャポニカ型品種としては、例えば、限定されるわけではないが、あそみのり、コシヒカリ、きらら 397、アキヒカリ、あきたこまち、ササニシキ、キヌヒカリ、日本晴、初星、黄金晴、ヒノヒカリ、ミネアサヒ、あいちのかおり、ハツシモ、アケボノ、フジヒカリ、峰の雪もち、ココノエモチ、ふくひびき、どんとこい、五百万石、ハナエチゼン、トドロキワセ、はえぬき、どまんなか、ヤマヒカリ等が知られている。「インディカ型品種」も「ジャポニカ型品種」も当業者に周知であり、当業者はどのようなイネ品種が本発明の対象となり得るか容易に判断できる。

## 【0050】

本発明の核酸は、一本鎖および二本鎖型両方の DNA と共に、その RNA 相補体も含む。DNA には、例えば、ゲノム DNA (その対応する cDNA も含む)、化学的に合成された DNA、PCR により増幅された DNA、およびそれらの組み合わせが含まれる。

## 【0051】

本発明の Rf-1 遺伝子を含む核酸は、好ましくは配列番号 27 の塩基配列を有する。1 つ以上のコドンが同一のアミノ酸をコードする場合があります、遺伝暗号の縮重と呼ばれている。このため、配列番号 27 と完全には一致していない DNA 配列が、配列番号 27 と全く同一のアミノ酸配列を有するタンパク質をコードすることがあり得る。こうした変異体 DNA 配列は、サイレント (silent) 突然変異 (例えば、PCR 増幅中に発生する) から生じてよいし、または天然配列の意図的な突然変異誘発の産物であってもよい。

## 【0052】

本発明のRf-1遺伝子は、好ましくは配列番号75に記載のアミノ酸配列をコードする。しかしながら、これに限定されることなく、1またはそれ以上のアミノ酸配列が欠失、付加または置換しているアミノ酸配列を有していてもよい。、稔性回復機能を有する限り、全ての相同タンパク質を含むことが意図される。

「アミノ酸変異」は1から複数個、好ましくは、1ないし20個、より好ましくは1ないし10個、最も好ましくは1ないし5個である。Rf-1遺伝子にコードされるアミノ酸配列は、配列番号75に記載のアミノ酸配列と、少なくとも約70%、好ましくは約80%以上、より好ましくは90%以上、さらに好ましくは95%以上、最も好ましくは98%以上の同一性を有する。

## 【0053】

アミノ酸の同一性パーセントは、視覚的検査及び数学的計算により決定してもよい。あるいは、2つのタンパク質配列の同一性パーセントは、Needleman, S. B. 及びWunsch, C. D. (J. Mol. Biol., 48: 443-453, 1970) のアルゴリズムに基づき、そしてウィスコンシン大学遺伝学コンピューターグループ(UWGCG)より入手可能なGAPコンピュータープログラムを用い配列情報を比較することにより、決定してもよい。GAPプログラムの好ましいデフォルトパラメーターには：(1) Henikoff, S 及びHenikoff, J. G. (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89: 10915-10919, 1992) に記載されるような、スコアリング・マトリックス、blosum62；(2) 12のギャップ加重；(3) 4のギャップ長加重；及び(4) 末端ギャップに対するペナルティなし、が含まれる。

## 【0054】

当業者に用いられる、配列比較の他のプログラムもまた、用いてもよい。同一性のパーセントは、例えばAltschulら(Nucl. Acids. Res. 25., p. 3389-3402, 1997) に記載されているBLASTプログラムを用いて配列情報と比較し決定することが可能である。当該プログラムは、インターネット上でNational Center for Biote

chnology Information (NCBI)、あるいはDNA Data Bank of Japan (DDBJ) のウェブサイトから利用することが可能である。BLASTプログラムによる相同性検索の各種条件（パラメーター）は同サイトに詳しく記載されており、一部の設定を適宜変更することが可能であるが、検索は通常デフォルト値を用いて行う。

## 【0055】

同一の機能を有するタンパク質であっても、由来する品種の相違によって、そのアミノ酸配列に相違が存在しうることが当業者にとって周知の事実である。本発明のRf-1遺伝子は、稔性回復機能を有する限り、配列番号27の塩基配列のこのような相同体、変異体も含みうる。「稔性回復機能を有する」とは、当該DNA断片が導入された場合に、イネ個体又は種子に稔性を付与することを意味する。稔性回復は、Rf-1遺伝子よりタンパク質が発現されることに因ってもよく、あるいはRf-1遺伝子の核酸（DNA又はRNA）自体が稔性の付与に何らかの機能をしていてもよい。

## 【0056】

限定されるわけではないが、Rf-1遺伝子の相同体、変異体が稔性回復機能を有するか否かは、例えば、以下のように調べることが可能である。MSコシヒカリ（不稔系統）にコシヒカリの花粉をかけることにより得た未熟種子を供試して、Hiei et al (Plant Journal (1994), 6 (2), p. 272-282) の方法に従い、被検定核酸断片を導入する。得られた形質転換体を通常の条件で栽培すると、被検定核酸断片が稔性回復機能を有する場合にのみ、種子が稔る。

## 【0057】

Rf-1遺伝子を有しないジャポニカ型のあそみのりの対応する領域に由来する核酸は、配列番号28に示した塩基配列を有する。配列番号28と配列番号27の対応する部分は、全体として約98%の同一性を有する。よって、本発明の稔性回復遺伝子（Rf-1）座を含む核酸は、配列番号27と少なくとも約70%、好ましくは約80%以上、より好ましくは90%以上、さらに好ましくは95%以上、最も好ましくは98%以上の同一性を有する。「配列番号27」は、

特に好ましくは、g) 配列番号27の塩基43907-46279、あるいは、これに対応する、a) 配列番号69の塩基215-2587、b) 配列番号70の塩基213-2585、c) 配列番号71の塩基218-2590、d) 配列番号72の塩基208-2580、e) 配列番号73の塩基149-2521又はf) 配列番号74の塩基225-2597のいずれかを意図する。

## 【0058】

核酸の同一性パーセントは、視覚的検査および数学的計算により決定してもよい。あるいは、2つの核酸配列の同一性パーセントは、Devereuxら、*Nucl. Acids Res.*, 12:387 (1984)に記載され、そしてウイスコンシン大学遺伝学コンピューターグループ(UWGCG)より入手可能なGAPコンピュータープログラム、バージョン6.0を用い配列情報を比較することにより、決定してもよい。GAPプログラムの好ましいデフォルトパラメーターには：(1)ヌクレオチドに関する単一(unary)比較マトリックス(同一に対し1および非同値に対し0の値を含む)、およびSchwartzおよびDayhoff監修、*Atlas of Protein Sequence and Structure*, National Biomedical Research Foundation, pp. 353-358 (1979)に記載されるような、GribskovおよびBurgess, *Nucl. Acids Res.* 14:6745 (1986)の加重比較マトリックス；(2)各ギャップに対する3.0のペナルティおよび各ギャップ中の各記号に対しさらに0.10のペナルティ；および(3)末端ギャップに対するペナルティなし、が含まれる。当業者に用いられる、配列比較の他のプログラムもまた、用いてもよい。

## 【0059】

本発明の核酸はまた、配列番号27の塩基配列に中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズすることが可能であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸、並びに、配列番号27の塩基配列に高度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズすることが可能であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸を含む。

## 【0060】

本明細書において使用されるように、中程度にストリンジェントな条件は、例えば、DNAの長さに基づき、一般の技術を有する当業者により、容易に決定することが可能である。基本的な条件は、Sambrookら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第2版, Vol. 1, pp. 1.101-104, Cold Spring Harbor Laboratory Press, (1989)に示されている。例えば、ニトロセルロースフィルターに関し、5XSSC、0.5% SDS、1.0mM EDTA (pH 8.0)の前洗浄溶液、約40℃ないし60℃での、1XSSCないし6XSSC（または約42℃での約50%ホルムアミド中の、例えばスターク溶液 (Stark's solution) などの他の同様のハイブリダイゼーション溶液）のハイブリダイゼーション条件、および約60℃、0.5XSSC、0.1% SDSの洗浄条件の使用が含まれる。また、例えば、ハイブリダイゼーション溶液が約50%ホルムアミドを含む場合、上記ハイブリダイゼーション温度は約15℃ないし20℃低めとなる。非常にストリンジェントな条件もまた、例えばDNAの長さに基づき、当業者により、容易に決定することが可能である。一般に、非常にストリンジェントな条件は、上記中程度にストリンジェントな条件よりも、より高い温度及び／又はより低い塩濃度でのハイブリダイゼーション、及び／又は洗浄条件を含む、例えば、約60℃ないし65℃での0.1XSSCないし0.2XSSCのハイブリダイゼーション条件、および／又は約65℃ないし68℃、0.2XSSC、0.1% SDSの洗浄条件を含む。当業者は温度および洗浄溶液塩濃度は、プローブの長さなどの要因にしたがい、必要に応じ調整してもよいことを認識するであろう。

# 【0061】

「配列番号27」は、特に好ましくは、g) 配列番号27の塩基43907-46279、あるいは、これに対応する、a) 配列番号69の塩基215-2587、b) 配列番号70の塩基213-2585、c) 配列番号71の塩基218-2590、d) 配列番号72の塩基208-2580、e) 配列番号73の塩基149-2521又はf) 配列番号74の塩基225-2597のいずれかを意図する。

## 【0062】

同様に、本発明のDNAには、1つまたは複数の塩基の欠失、挿入または置換のため、配列番号27の塩基配列とは異なるが稔性回復機能を有する核酸を含む。稔性回復機能を有する限り、欠失、挿入または置換される塩基の数は特に制限されないが、好ましくは1個ないし数千個、より好ましくは1個ないし千個、さらにこのましくは1個ないし500個、さらにより好ましくは1個ないし200個、最も好ましくは1個ないし100個である。

## 【0063】

本明細書の記載に基づいてRf-1遺伝子がより特定され、当業者がRf-1遺伝子以外の部分またはRf-1遺伝子内のイントロン部分などの核酸を除いて使用することが可能である。また、既定のアミノ酸（特に配列番号75に記載のアミノ酸配列）を、例えば同様の物理化学的特性を有する残基により置換してもよい。こうした保存的置換の例には、1つの脂肪族残基を互いに、例えばIle、Val、Leu、またはAlaを互いに置換するもの；LysおよびArg、GluおよびAsp、またはGlnおよびAsn間といった、1つの極性残基から別のものへの置換；あるいは芳香族残基の別のものでの置換、例えばPhe、Trp、またはTyrを互いに置換するものが含まれる。他の保存的置換、例えば、同様の疎水性特性を有する領域全体の置換が、周知である。当業者は、周知の遺伝子工学的手法により、Sambrookら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第2版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, (1989)等に記載の、例えば部位特異的突然変異誘発法を使用して、所望の欠失、挿入または置換を施すことが可能である。

## 【0064】

本発明者らは、Rf-1遺伝子を有するインディカ型のIR24（塩基配列27）と、有しないジャポニカ型のあそみのり（塩基配列28）およびGenBankに登録されている日本晴BACクローン（アクセッション番号AC068923）とを比較した。その結果、Rf-1遺伝子を含むインディカ型のRf-1領域は少なくとも、以下の1塩基多型（SNP）を有することを見出した。

## 【0065】

- 1) 配列番号27の塩基1239に相当する塩基がAである；
- 2) 配列番号27の塩基6227に相当する塩基がAである；
- 3) 配列番号27の塩基20680に相当する塩基がGである；
- 4) 配列番号27の塩基45461に相当する塩基がAである；
- 5) 配列番号27の塩基49609に相当する塩基がAである；
- 6) 配列番号27の塩基56368に相当する塩基がTである；
- 7) 配列番号27の塩基57629に相当する塩基がCである；及び
- 8) 配列番号27の塩基66267に相当する塩基がGである。

## 【0066】

よって、本発明のRf-1領域を含む核酸は、好ましくは上記条件1) - 8)の1つないし全てを満たす。

なお、後述の実施例3において、Rf-1遺伝子極近傍組換え個体(RS1-RS2、RC1-RC8)についてそのRf-1領域の染色体構成を調べた。その結果、配列番号27の塩基1239ないし66267の塩基配列、即ち、最大限に見積もってもP4497 Mb o I座からB56691 Xba I座までの領域(約65 kb)(図3)に、Rf-1遺伝子の機能の有無を決定する配列が含まれることが明らかにされた。ただし、Rf-1遺伝子の一部の遺伝子型がインディカ型であることが、Rf-1遺伝子の遺伝子機能発現に重要であり、残りの部分はジャポニカ型でもインディカ型でも遺伝子機能に大きな差異を生じない可能性がある。極端な場合、ジャポニカ・インディカ間でコーディング領域は完全に同一で、プロモーター領域だけに差があり、そして、プロモーター領域及びコーディング領域の一部のみが上記P4497 Mb o I座からB56691

Xba I座までの領域(約65 kb)に含まれることもあり得る。よって、上記共有インディカ型領域(配列番号27の塩基1239ないし66267)がRf-1遺伝子全体を完全に包含するとは、断定できない。しかしながら、以下の理由、

- 1) 遺伝子の大きさは通常数kbであり10kbを超えることは稀である；
- 2) 本発明で明らかにしたIR24のゲノム塩基配列(配列番号27)は、

上記共有インディカ型領域を完全に包含する；

3) 配列番号27の5'末端は、上記共有インディカ型領域の5'末端から1238bp上流に位置し、別の遺伝子(S12564)の一部である；および

4) 配列番号27の3'末端は、上記共有インディカ型領域の3'末端から10096bp下流に位置する

により、少なくとも配列番号27はRf-1遺伝子全体を完全に包含すると考えられる。

#### 【0067】

このように、本発明者らは、まずRf-1遺伝子領域を76kbまで絞り込むことに成功した。よって、本発明のRf-1遺伝子領域を含む核酸は、従来技術の特開2000-139465に記載のRf-1遺伝子からの遺伝子距離が約1cM(約300kb)ある共優性マーカー座を用いて選抜した場合よりも、Rf-1遺伝子の近傍に存在する他の遺伝子を含む可能性が格段に低い。さらに、本発明者らの先の特願2000-247204に記載のDNAマーカー座S12564 Tsp509IとC1361 MwoI座(両遺伝子座の距離は約0.3cM)を用いて選抜した場合よりも他の遺伝子を含む可能性が低い。

#### 【0068】

さらに、本発明者らは相補性試験を行うことにより、配列番号27の塩基配列のうち、特に塩基38538-54123にRf-1遺伝子が完全に含まれていることを確認した。よって、本発明の一態様において、配列番号27の塩基配列又は配列番号27の塩基38538-54123の塩基配列と、少なくとも70%同一の塩基配列は、以下の条件1)及び2)の少なくとも一つを満たす：

- 1) 配列番号27の塩基45461に相当する塩基がAである；及び
- 2) 配列番号27の塩基49609に相当する塩基がAである。

#### 【0069】

本発明者らはさらに、Rf-1遺伝子を含む核酸として以下の領域を特定した。

- a) 配列番号69の塩基215-2587、
- b) 配列番号70の塩基213-2585、



- c) 配列番号 71 の塩基 218-2590、
- d) 配列番号 72 の塩基 208-2580、
- e) 配列番号 73 の塩基 149-2521 及び
- f) 配列番号 74 の塩基 225-2597。

【0070】

上記塩基配列は、g) 配列番号 27 の塩基 43907-46279 に対応する。  
本発明の核酸はさらに、

h) 上記 a) - g) のいずれかの核酸と少なくとも 70% 同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸；

i) 上記 a) - g) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のス 트리 ン ジ ェ ン ト な 条 件 下 で ハ イ ブ リ ダ イ ズ し、かつ、稔性回復機能を有する核酸；及び

j) 上記 a) - g) のいずれかの核酸に 1 ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸。

を含む。

【0071】

上記の配列番号 27 の塩基 45461 は、1) 配列番号 69 の塩基 1769；  
2) 配列番号 70 の塩基 1767；3) 配列番号 71 の塩基 1772；4) 配列番号 72 の塩基 1762；5) 配列番号 73 の塩基 1703；及び 6) 配列番号 74 の塩基 1779、に相当する。よって、特に好ましくは、本発明の方法に使用する核酸は、好ましくは、以下の条件 1) - 6) の少なくとも一つを満たす：

- 1) 配列番号 69 の塩基 1769 に相当する塩基が A である；
- 2) 配列番号 70 の塩基 1767 に相当する塩基が A である；
- 3) 配列番号 71 の塩基 1772 に相当する塩基が A である；
- 4) 配列番号 72 の塩基 1762 に相当する塩基が A である；
- 5) 配列番号 73 の塩基 1703 に相当する塩基が A である；又は
- 6) 配列番号 74 の塩基 1779 に相当する塩基が A である。

【0072】

IV. イネの稔性の回復方法

本発明は、配列番号 27 の塩基配列を有する核酸、又は配列番号 27 の塩基配

列と少なくとも70%同一の塩基配列であって、稔性回復機能を有する核酸をイネに導入することにより、イネの稔性を回復する方法を提供する。本発明の方法はまた、配列番号27の一部、特に、配列番号27の塩基38538-54123、好ましくは、塩基42357-53743、より好ましくは、塩基42132-48883の塩基配列を有する核酸、又は配列番号27の塩基38538-54123、好ましくは、塩基42357-53743、より好ましくは、塩基42132-48883の塩基配列と少なくとも70%同一の塩基配列であって、稔性回復機能を有する核酸をイネに導入してもよい。

## 【0073】

本発明の方法は特に好ましくは、配列番号75のアミノ酸配列、又は配列番号75のアミノ酸配列と少なくとも70%同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸をイネに導入する。最も好ましくは、配列番号75のアミノ酸配列、又は配列番号75のアミノ酸配列と少なくとも70%同一のアミノ酸配列をコードする核酸は、以下のa) - j) の核酸から選択される：

- a) 配列番号69の塩基215-2587を含む核酸；
- b) 配列番号70の塩基213-2585を含む核酸；
- c) 配列番号71の塩基218-2590を含む核酸；
- d) 配列番号72の塩基208-2580を含む核酸；
- e) 配列番号73の塩基149-2521を含む核酸；
- f) 配列番号74の塩基225-2597を含む核酸；
- g) 配列番号27の塩基43907-46279を含む核酸；
- h) 上記a) - g) のいずれかの核酸と少なくとも70%同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸；
- i) 上記a) - g) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のスリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、稔性回復機能を有する核酸；及び
- j) 上記a) - g) のいずれかの核酸に1ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸。

## 【0074】

本発明において、イネに導入されうる稔性回復遺伝子（Rf-1）座を含む核酸は、先の「III. Rf-1 遺伝子座を含む核酸」において記載の核酸を使用しうる。核酸のイネへの導入方法は特に限定されず、公知の方法を使用することが可能である。本発明の核酸は公知の遺伝子工学的な方法によって導入しても、あるいは交配によっても導入してもよい。隣接する他の遺伝子の導入を防げる、育種年限を短縮できる、という観点より遺伝子工学的な方法の使用が好ましい。

## 【0075】

遺伝子工学的手法による形質導入のためにはいかなる適切な発現系を使用してもよい。組換え発現ベクターは、適切な転写または翻訳制御ヌクレオチド配列、例えば、哺乳動物、微生物、ウイルス、または昆虫遺伝子由来のものなどに、機能可能であるように連結されている、本発明のイネに導入されうる稔性回復遺伝子（Rf-1）を含む核酸を含む。

## 【0076】

制御配列の例には、転写プロモーター、オペレーター、またはエンハンサー、mRNAリボソーム結合部位、並びに転写および翻訳開始および終結を調節する適切な配列が含まれる。ヌクレオチド配列は、制御配列が該DNA配列に機能的に関連しているとき、機能可能であるように連結されている。したがって、プロモーターヌクレオチド配列は、該プロモーターヌクレオチド配列がDNA配列の転写を調節するならば、DNA配列に、機能可能であるように連結されている。イネにおいて複製する能力を与える複製起点、および形質転換体を同定する選択遺伝子が、一般的に発現ベクターに取り込まれている。選択マーカーとしては、通常使用されるものを常法により用いることができる。例えばテトラサイクリン、アンピシリン、またはカナマイシンもしくはネオマイシン、ハイグロマイシンまたはスペクチノマイシン等の抗生物質耐性遺伝子などが例示される。

## 【0077】

さらに、必要に応じて適切なシグナルペプチド（天然または異種性）をコードする配列を、発現ベクターに取り込んでもよい。シグナルペプチド（分泌リーダー）のDNA配列を、インフレームで本発明の核酸配列に融合させ、DNAがまず転写され、そしてmRNAがシグナルペプチドを含む融合タンパク質に翻訳さ

れるようにしてもよい

本発明によればまた、本発明の遺伝子を含む組換えベクターが提供される。プラスミドなどのベクターに本発明の遺伝子のDNA断片を組み込む方法としては、例えば、Sambrook, J. ら, Molecular Cloning, A Laboratory Manual (2nd edition), Cold Spring Harbor Laboratory, 1.53 (1989) に記載の方法などが挙げられる。簡便には、市販のライゲーションキット（例えば、宝酒造製等）を用いることもできる。このようにして得られる組換えベクター（例えば、組換えプラスミド）は、宿主細胞であるイネに導入される。

【0078】

ベクターは、簡便には当業界において入手可能な組換え用ベクター（例えば、プラスミドDNAなど）に所望の遺伝子を常法により連結することによって調製することができる。本願発明の核酸断片を用いてイネに稔性を付与する場合には、特に、植物形質転換用ベクターが有用である。植物用ベクターとしては、植物細胞中で当該遺伝子を発現し、当該タンパク質を生産する能力を有するものであれば特に限定されないが、例えば、pBI221、pBI121（以上Clontech社製）、及びこれらから派生したベクターが挙げられる。また、特に単子葉植物たるイネの形質転換には、pIG121Hm、pTOK233（以上Hiei ら, Plant J., 6, 271-282 (1994)）、pSB424（Komari ら, Plant J., 10, 165-174 (1996)）などが例示される。

【0079】

形質転換植物は、上述のベクターの $\beta$ -グルクロニダーゼ（GUS）遺伝子の部位に本願発明の核酸断片を入れ替えて植物形質転換用ベクターを構築し、これを植物に導入することで調整することができる。植物形質転換用ベクターは、少なくともプロモーター、翻訳開始コドン、所望の遺伝子（本願発明の核酸配列またはその一部）、翻訳終始コドンおよびターミネーターを含んでいることが好ましい。また、シグナルペプチドをコードするDNA、エンハンサー配列、所望の遺伝子の5'側および3'側の非翻訳領域、選抜マーカー領域などを適宜含んで

いてもよい。プロモーター、ターミネーターは植物細胞で機能するものであれば特に限定されないが、構成的発現をするプロモーターとしては、上記ベクターに予め組み込まれている35Sプロモーターの他に、アクチン、ユビキチン遺伝子のプロモーターなどが例示される。

## 【0080】

プラスミドを宿主細胞に導入する方法としては、一般に、Sambrook, J. ら, Molecular Cloning, A Laboratory Manual (2nd edition), Cold Spring Harbor Laboratory, 1. 74 (1989) に記載のリン酸カルシウム法または塩化カルシウム/塩化ルビジウム法、エレクトロポレーション法、エレクトロインジェクション法、PEGなどの化学的な処理による方法、遺伝子銃などを用いる方法などが挙げられる。植物細胞の場合は、例えばリーフディスク法 [Science, 227, 129 (1985)]、エレクトロポレーション法 [Nature, 319, 791 (1986)] によって形質転換することができる。

## 【0081】

特に植物への遺伝子導入法としては、アグロバクテリウムを用いる方法 (Horsch et al., Science, 227, 129 (1985), Hiei et al., Plant J., 6, 271-282 (1994))、エレクトロポレーション法 (Fromm et al., Nature, 319, 791 (1986))、PEG法 (Paszkowski et al., EMBO J., 3, 2717 (1984))、マイクロインジェクション法 (Crossway et al., Mol. Gen. Genet., 202, 179 (1986))、微小物衝突法 (McCabe et al., Bio/Technology, 6, 923 (1988)) などが挙げられる。所望の植物に核酸を導入する方法であれば特に限定されない。

## 【0082】

一方、交配による導入の場合には、例えば、以下のようにして行うことが可能である。まず、Rf-1 供与親とジャポニカ品種とを交雑して得られた  $F_1$  に、

ジャポニカ品種を戻し交雑する。得られた個体のなかから、S12564 Ts p509 I座がジャポニカ型ホモ、P4497 Mb o I座及びB53627 B s t Z17 I座がヘテロの個体を選別し、さらなる戻し交雑に供試する。得られた個体のなかから、P4497 Mb o I座及びB56691 X b a I座がヘテロ、B53627 B s t Z17 I座がジャポニカ型ホモの個体を選抜し、さらなる戻し交雑に供試する。以後は、戻し交雑各世代で、P4497 Mb o I座及びB56691 X b a I座がヘテロの個体を選抜し、次の戻し交雑に供試する、という工程を10回程度繰り返す。最後に、P4497 Mb o I座及びB56691 X b a I座がヘテロの個体を自殖させ、得られた個体から両座がインディカ型ホモの個体を選抜することにより、P4497 Mb o I座からB56691 X b a I座までの限定された染色体領域をRf-1 供与親から引き継ぐ回復系統を得ることができる。

## 【0083】

本発明において、稔性回復遺伝子(Rf-1)を含む核酸が単離されたことにより、Rf-1 遺伝子を遺伝子工学の技術を用いてイネ品種に導入し、回復系統を育成することが可能となった。本発明ではRf-1 領域を先ず76 kb以下にまで絞り込むことに成功した。よって本発明のRf-1 遺伝子座を含む核酸は、従来技術と比較して、Rf-1 遺伝子の近傍に存在する他の遺伝子を含む可能性が格段に低い。さらに、本発明はRf-1 遺伝子を含む領域の全塩基配列を明らかにした。当業者は、本明細書の記載に基づきRf-1 遺伝子自体の解析することが進めることができる。よって、隣接する遺伝子を全く含まずにRf-1 遺伝子のみを導入することも可能となった。これは、隣接遺伝子が劣悪形質をもたらす遺伝子である場合に特に重要である。さらに、交雑の場合より早く、1~2年の短期間での回復系統を育成も可能となった。

## 【0084】

そして、本明細書中の実施例4-13に記載の相補性試験では実際に、図5に記載の10個のクローン由来の断片を用い、アグロバクテリウムを用いる方法によりMSコシヒカリ(BT細胞質を持ち、核遺伝子はコシヒカリとほぼ同一)を形質転換した。その結果、配列番号27の塩基38538-54123、好まし

くは、塩基42357-53743、より好ましくは、塩基42132-48883の塩基配列を含む核酸によって、稔性回復系統が育成されることが証明された。

#### 【0085】

限定されるわけではないが、アグロバクテリウムを用いるイネの回復系統の作成方法は、例えば、Hiei et al., Plant J., 6, p. 271-282 (1994)、Komari et al., Plant J., 10, p. 165-174 (1996)、Ditta et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: p. 7347-7351 (1980) 等に記載されている。

#### 【0086】

先ず、所期の挿入したい核酸断片を含むプラスミドベクターを作成する。プラスミドベクターは、例えば、前記Komari et al., Plant J., 10, p. 165-174 (1996) らにプラスミドマップが記載されている、pSB11、pSB22等が使用可能である。あるいは、当業者は例えば前記pSB11、pSB22等のプラスミドベクターを基に、自ら適当なベクターを構築する事も可能である。本明細書後述する実施例では、pSB11を基に、ハイグロマイシン耐性遺伝子カセットを持つ中間ベクターpSB200を作成して使用した。具体的には、先ず、ユビキチンプロモーターとユビキチンイントロン (Pubi-ubi I) に、ノパリン合成酵素のターミネーター (Tnos) を接続した。これより得られたPubi-ubi I-Tnos接続体のubi I-Tnos間に、ハイグロマイシン耐性遺伝子 (HYG (R)) を挿入することにより、Pubi-ubi I-HYG (R)-Tnosからなる接続体を得た。この接続体を、pSB11 (Komariら、上述) のHind III/EcoRI断片に接続することにより、pKY205を得た。このpKY205のPubi上流に存在するHind III部位にNot I、Nsp V、EcoRV、Kpn I、Sac I、EcoRIの制限酵素部位を追加するためのリンカー配列を挿入することにより、ハイグロマイシン耐性遺伝子カセットを有するpSB200を得た。

## 【0087】

次いで、挿入核酸を含む組換えベクターを用いて大腸菌（例えばDH5 $\alpha$ 、JM109、MV1184等、いずれも例えばTAKARA社より購入可能）を形質転換する。

## 【0088】

さらに、形質転換された大腸菌を用いて、アグロバクテリウム菌株を好ましくはヘルパー大腸菌株とともに、例えば、Ditt et al (1980)の方法に従い、三菌系交雑 (triparential mating) を行う。限定されるわけではないが、アグロバクテリウムは例えば、Agrobacterium tumefaciens 菌株LBA4404/pSB1、LBA4404/pNB1、LBA4404/pSB3等を使用することが可能である。いずれも前述のKomari et al., Plant J., 10, p. 165-174 (1996) にプラスミドマップが記載されており、当業者は例えば自らベクター構築を行うことにより使用可能である。限定されるわけではないが、ヘルパー大腸菌は、例えばHB101/pRK2013（クローンテック社より入手可能）等が使用可能である。また、より一般的ではないがpRK2073を保有する大腸菌もヘルパー大腸菌として使用可能との報告がある (Lemas et al., Plasmid 1992, 27, p. 161-163)。

## 【0089】

次いで、所期の交配が生じたアグロバクテリウムを用いて、例えば、Hiei et al (1994)の方法に準拠し、雄性不稔イネの形質転換を行う。形質転換に必要なイネ未熟種子は、例えば、雄性不稔イネにジャポニカ品種の花粉をかけることにより作成できる。

## 【0090】

形質転換植物の稔性回復は、例えば出穂約1か月後に、種子稔性を立毛調査することによって調べることが可能である。立毛調査とは、圃場などで栽培されている状態で観察する方法である。あるいは、実験室で穂の稔実率を調べる稔実率調査を行ってもよい。



【0091】

V. Rf-1 遺伝子の存在の有無の識別方法

本発明において Rf-1 遺伝子の機能の有無を決定する配列が、イネ第10染色体上の約 65 kb の多型検出用マーカー座 P4497 MboI と B56691 XbaI の間に存在することが明らかにされた。さらに、相補性試験により、配列番号 27 の塩基配列のうち、特に塩基 38538-54123 に Rf-1 遺伝子が完全に含まれていることが確認された。

【0092】

また、Rf-1 遺伝子を有するインディカ型品種 (IR24) (配列番号 27) と当該遺伝子を有しないジャポニカ型品種 (あそみのり (配列番号 28) および日本晴 BAC クローン AC068923) の塩基配列を比較し、両者に複数の多型 (polymorphism) が存在することが明らかになった。その結果、Rf-1 遺伝子近傍領域における塩基配列の多型を利用することにより、被検定イネ個体又は種子が Rf-1 遺伝子を有するか否かを、簡便、迅速かつ正確に識別することが可能となった。

【0093】

よって、本発明はまた、Rf-1 遺伝子の機能の有無を決定する配列がイネ第10染色体上の多型検出用マーカー座 P4497 MboI と B56691 XbaI の間に存在することを利用して、被検定イネ個体又は種子が Rf-1 遺伝子を有するか否かを識別する方法を提供する。

【0094】

多型の検出は公知の任意の方法を使用して行うことが可能である。例えば、制限酵素断片長の多型 (restriction fragment length polymorphism; RFLP) を調べる方法、塩基配列の決定により直接的に決定する方法、ゲノム DNA を 8 塩基認識制限酵素で切断後、末端を放射能標識し、さらに、6 塩基および 4 塩基認識制限酵素で切断し、2次元電気泳動で展開する方法 (RLGS法、Restriction Landmark Genome Scanning) 等が知られている。さらに、RFLP をポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) によって増幅・検出する AFLP (amplif

ied fragment length polymorphism; P. Vos, ら、Nucleic Acids Res. Vol. 23, p. 4407-4414 (1995)) 分析も開発されている。

【0095】

例えば、従来より以下に例示するようなRFLPをPCR増幅を用いて検出する方法(RFLPマーカーのPCRマーカー化)、マイクロサテライトの多型をPCR増幅を用いて検出する方法(マイクロサテライトマーカー)が採用されてきた。

【0096】

RFLPマーカーのPCRマーカー化

A. RFLPプローブ対応ゲノム領域の多型を利用してPCRマーカー化する方法(D. E. Harry, B. Temesgen, D. B. Neale; Codominant PCR-based markers for Pinus taeda developed from mapped cDNA clones, Theor. Appl. Genet. (1998) 97: p. 327-336)。これは、RFLPマーカープローブ配列(「RFLP」は、あるDNA断片をプローブに用いてサザン解析を行った場合に観察される多型である。プローブに用いたDNA断片の塩基配列を「RFLPマーカープローブ配列」と呼ぶ。)に対して設計したプライマーを用いてゲノムPCRを行った後、次の二方法のいずれかによりPCRマーカー化できる。第1は、産物を一連の制限酵素で処理し、断片長多型を生じる制限酵素を探索する手法であり、第2は、産物の塩基配列を品種間比較して多型を探索し、その多型を利用してPCRマーカー化する方法である。

【0097】

B. RFLP原因部位を同定してPCRマーカー化する方法。これは、RFLPマーカープローブ配列内あるいはその周辺(通常数kb以内)に存在するRFLP原因部位(比較する2品種の一方のみが持つ制限酵素認識部位)を同定することにより、PCRマーカー化する方法である。

【0098】

マイクロサテライトマーカー

マイクロサテライトとは、 $(CA)_n$ のような2ないし4塩基程度の繰り返し配列であり、ゲノム中に多数存在している。繰り返し数に品種間多型がある場合、隣接領域に設計したプライマーを用いてPCRを行うと、PCR産物長に多型が観察され、DNA多型を検出することが可能となる。マイクロサテライトを利用した多型検出マーカーは、マイクロサテライトマーカーと呼ばれている (O. Parnaud, X. Chen, S. R. McCouch, , Mol. Gen. Genet. (1996) 252: p. 597-607)。

【0099】

本発明において多型の検出方法は特に限定されない。効率、簡便性の観点より、PCRとRFLPを組み合わせて、比較する品種系統間において、PCRにより増幅したDNA断片配列中の制限酵素認識部位に多型が存在する場合に、その制限酵素による切断パターンからいずれの型であるかを決定するPCR-RFLP法が好ましい。PCR-RFLP法は、CAPS (cleaved amplified polymorphic sequence) 法とも呼ばれる。多型が見出される部位に適当な制限酵素認識部位が存在しない場合、PCRの際に制限酵素部位を導入するCAPSの修飾法、dCAPS (derived cleaved amplified polymorphic sequence) も使用可能である (Michaels, S. D. and Amasino, R. M. (1998), The Plant Journal 14 (3) 381-385; A. Koniecznyら, (1993), Plant J. 4 (2) p. 403-410; Neff, M. M., Neff, J. D., Chory, J. and Pepper, A. E. (1998), The Plant Journal 14 (3) 387-392)。以下、より詳細に説明する。

【0100】

CAPS法、dCAPS法

限定されるわけではないが、本発明の識別方法では

i) Rf-1遺伝子座において、インディカ品種とジャポニカ品種の塩基配列

において多型が見出される部位およびその隣接領域の塩基配列に基づいて、当該塩基配列を増幅するようにプライマー対を作成し；

i i) 被検定イネ個体又は種子のゲノムDNAを鋳型として核酸増幅反応を行い；そして

i i i) 前記核酸増幅産物に見出される多型に基づいて、被検定イネ個体又は種子がRf-1遺伝子を有するか否かを判断する。

#### 【0101】

工程i)におけるプライマー対の作成は、好ましくは

a) 前記核酸増幅産物の多型中に欠失領域を有する型が存在する場合、当該欠失領域の両側に欠失領域を挟むように核酸増幅用プライマー対を作成し、多型検出用マーカースとする；

b) 前記核酸増幅産物の多型中に制限酵素認識に差異を生じる塩基置換が存在する場合、当該塩基置換部位の両側に置換部位を挟むように核酸増幅用プライマー対を作成し、多型検出用マーカースとする；または

c) 前記核酸増幅産物の多型中に制限酵素認識に差異を生じない塩基置換が存在する場合、当該塩基置換部位を含み、そして、当該塩基置換部位を含む領域を核酸増幅産物では制限酵素認識に差異を生じるような塩基配列に変更するようなミスマッチ導入用プライマー対を作成し、多型検出用マーカースとする；  
のいずれかの手段を含む。

#### 【0102】

限定されるわけではないが、本発明において、Rf-1遺伝子の存在を識別するために利用可能な適当な多型部位は、例えば、Rf-1遺伝子を有するインディカ型品種（IR24）（配列番号27）と当該遺伝子を有しないジャポニカ型品種（あそみのり（配列番号28）およびBACクローンAC068923）の塩基配列を比較し、以下のように多型検出用マーカースの作成が可能となるように、適宜選択することができる。

#### 【0103】

例えば、見出された多型が制限酵素認識部位に差異を生じる場合、当該多型部位の両側に多型部位を挟むように核酸増幅プライマーを作成し、多型検出用に用

いる。プライマーを設計する際は、不要な産物を避けるために、反復性の高い配列に対して設計しない方が好ましい。見出された多型が制限酵素認識に差異を生じない場合、記述の dCAPS 法を適用することにより、マーカーを作成することができる。dCAPS マーカーのプライマーを設計する際は、反復配列に対して設計しない方が好ましいことに加え、多型を識別しやすするため産物長が、好ましくは 50-300 塩基、より好ましくは 100 塩基程度となるようにするとよい。

## 【0104】

見出された多型がマイクロサテライトに関するものであれば、当該マイクロサテライトを挟むように核酸増幅用プライマーを作成し、多型検出用に用いる。この場合も、反復配列に対してプライマーを設計しない方が好ましい。

## 【0105】

1) 核酸増幅

本発明では、好ましくは、解明された被検定イネ個体又は種子の Rf-1 遺伝視座の核酸配列の塩基配列に基づいて、多型を含む隣接領域を増幅するようにプライマー対を作成する。当該プライマーを使用して、被検定イネ個体又は種子のゲノム DNA を鋳型に核酸増幅反応を行う。核酸増幅反応は好ましくは、複製連鎖反応 (PCR) (サイキら、1985, Science 230, p. 1350-1354) である。

## 【0106】

核酸増幅のためのプライマー対は、多型部位およびその隣接領域の塩基配列に基づき公知の方法により作成することが可能である。具体的には、限定されるわけではないが、例えば、多型部位およびその隣接領域の塩基配列に基づき、以下の条件：

- 1) 各プライマーの長さが 15-30 塩基であること；
- 2) 各プライマーの塩基配列中の G+C の割合が 30-70% であること；
- 3) 各プライマーの塩基配列中の A、T、G および C の分布が部分的に大きく偏らないこと；
- 4) プライマー対によって増幅される核酸増幅産物の長さが 50-3000

塩基、好ましくは 50-300 塩基であること；そして

5) 各プライマー自身の塩基配列中、又はプライマー同士の塩基配列間に相補的な配列部分が存在しないこと

を満たすように、多型部位およびその隣接領域の塩基配列と同じ塩基配列若しくは上記領域に相補的な塩基配列を有する一本鎖 DNA を製造し、または、必要であれば多型部位およびその隣接領域の塩基配列に対する結合特異性を失わないように修飾した上記一本鎖 DNA を製造する

ことを含む方法により、プライマー対を作成できる。

#### 【0107】

本発明において増幅される、多型部位の「隣接領域」とは、多型とその隣接領域の双方を含む領域が、好ましくは、PCR 法等の核酸増幅が可能な距離の範囲内にあることを意味する。限定されるわけではないが、好ましくは増幅される隣接領域が約 50 塩基ないし約 3000 塩基、より好ましくは約 50 塩基ないし約 2000 塩基の範囲内にある。多型を識別しやすするためは、産物長が好ましくは 50-300 塩基、より好ましくは 100 塩基程度となるようにするとよい。限定されるわけではないが、隣接領域は、多型部位の 5' 側または 3' 側に好ましくは約 0 塩基ないし約 3000 塩基、より好ましくは約 0 塩基ないし約 2000 塩基、より好ましくは約 0 塩基ないし約 1000 塩基の範囲内にある。

#### 【0108】

核酸増幅反応の手順及び条件は特に限定されず、当業者に周知である。当業者は、多型部位およびその隣接領域の塩基配列、プライマー対の塩基配列および長さ等の種々の要因に応じて適宜、条件を採用することが可能である。一般には、プライマー対の長さが長い程、G+C の割合が高いほど、A、T、G および C の分布の偏りが小さい程よりストリンジントな条件（より高温でのアニーリング反応および核酸伸長反応、より少ないサイクル数）で核酸増幅反応を行うことが可能である。よりストリンジントな条件の採用により、特異性の高い増幅反応が可能となる。

#### 【0109】

増幅反応は、限定されるわけではないが、例えば、鋳型として使用するゲノム

DNA 50 ng、dNTP各200  $\mu$ M、ExTaq<sup>TM</sup> (TAKARA) 5Uを使用し、例えば、94℃にて2分を1サイクル行った後、94℃にて1分、58℃にて1分、72℃にて2分を1サイクルとして30サイクル行い、最後に72℃にて2分を1サイクル行うことにより行うことができる。あるいは、94℃にて2分を1サイクル行った後、94℃にて1分、58℃にて1分、72℃にて1分を1サイクルとして30サイクル行い、最後に72℃にて2分を1サイクル行うことにより行うこともできる。あるいは、別の態様においては、94℃にて2分を1サイクル行った後、94℃にて30秒、58℃にて30秒、72℃にて30秒を1サイクルとして35サイクル行い、最後に72℃にて2分を1サイクル行うことにより行うこともできる。

【0110】

PCRの鋳型として使用する被検定イネゲノムのDNAは、Edwardsら (Nucleic Acids Res. 8 (6) : 1349, 1991) の方法で、個体又は種子より簡易に抽出することができる。より好ましくは、標準的な方法により精製したDNAを用いるのがよい。CTAB法 (Murray M. G., et al., Nucleic Acids Res. 8 (19) : 4321-5, 1980) は、特に好ましい抽出法である。PCRを行うための鋳型として使用するDNAの濃度は、終濃度で0.5 ng/ $\mu$ l が好ましい。

【0111】

## 2) 多型検出用マーカーの作成

上記プライマー対を用いた核酸増幅反応により、増幅産物に多型が検出されるか否かを調査し、見出された多型に基づいて多型検出用マーカーを作成する。限定されるわけではないが、増幅産物に検出されうる多型としては以下のようなものがある。

【0112】

a) 前記核酸増幅産物の多型中に欠失領域を有する型が存在する場合

このような場合、欠失領域の両側に欠失領域を挟むように核酸増幅用プライマー対を作成し、多型検出用マーカーとする。欠失領域の大きさが十分な場合、例

例えば増幅産物をアガロースゲル電気泳動又はアクリルアミドゲル電気泳動等することにより、泳動度の差により多型の検出が可能である。例えば、アガロースゲル電気泳動の場合には塩基対数に約5%以上の差がある場合、シーケンス用アクリルアミドゲル電気泳動の場合には約1塩基以上長さに差がある場合検出可能である。または、欠失領域外の塩基配列に相補的な配列を有するオリゴヌクレオチド若しくはDNA断片を解析用プローブとして、核酸増幅産物に対してハイブリダイゼーションを行うことにより、多型を検出することができる。あるいは、必要に応じ、増幅産物の塩基配列を決定して多型を確認してもよい。核酸の電気泳動、ハイブリダイゼーション、塩基配列の決定等は公知の方法を使用でき、当業者は適宜採用可能である。このような場合は、増幅産物の長さの相違が直接多型を生じるので、これを利用した多型検出用マーカーをALP (amplicon length polymorphism) マーカーと言う。

【0113】

b) 前記核酸増幅産物の多型中に制限酵素認識に差異を生じる塩基置換が存在する場合

このような場合、当該塩基置換部位の両側に置換部位を挟むように核酸増幅用プライマー対を作成し、多型検出用マーカーとする。このような場合、核酸増幅産物の多型中に制限酵素認識に差異を生じる塩基置換が存在する、即ち、核酸増幅産物中に、特定の1または複数の制限酵素で切断されるものとされないものが存在する。よって、得られた増幅産物を制限酵素処理し、例えばアガロースゲル等で電気泳動し、泳動度の差により多型を検出することが可能である。必要に応じ、増幅産物の塩基配列を決定して多型を確認してもよい。

【0114】

このような場合、PCR等による増幅産物の制限酵素断片の長さの相違が多型を生じるので、これを利用した多型検出用マーカーをCAPSマーカーまたはPCR-RFLPマーカーという (A. Koniecznyら, 上述)。

【0115】

後述する実施例1のプライマー対P4497 MboI、P23945 MboI、P41030 TaqI、P45177 BstUI、B59066 B



s a J I 及び B 5 6 6 9 1 X b a I がこのような場合に相当する。なお、前記 a) の核酸増幅産物の長さで多型を検出可能な場合であっても制限酵素処理を併用することにより、多型がより検出しやすくなる場合がある。

【0116】

c) 前記核酸増幅産物の多型中に制限酵素認識に差異を生じない塩基置換が存在する場合

このような場合、当該塩基置換部位を含み、そして、当該塩基置換部位を含む領域を核酸増幅産物では制限酵素認識に差異を生じるような塩基配列に変更するようなミスマッチ導入プライマー対を作成し、多型検出用マーカーとする。

【0117】

具体的には、天然の R f - 1 遺伝子近傍領域の塩基配列に基づくプライマー対では核酸増幅産物に多型を生じるが制限酵素認識に差異を生じないため、片方のまたは双方のプライマーにミスマッチを導入し、当該塩基置換部位（多型）を含む領域を核酸増幅産物では制限酵素認識に差異を生じるような塩基配列に変更する。例えば、PCR法を用いた部位特異的変異の導入による特定ヌクレオチドの置換、欠失又は付加の一般的な技術は、例えば M i k a e l i a n ら、N u c l . A c i d s . R e s . 20 : 376, 1992 に記載された方法を用いることができる。上記ミスマッチ導入プライマーを多型検出用マーカーとして用いた増幅産物では、ミスマッチ導入部位において制限酵素認識に差異を有するため、核酸増幅産物中に、特定の 1 または複数の制限酵素で切断されるものとされないものが存在する。よって、上述の b) の場合と同様に得られた増幅産物を制限酵素処理し、例えばアガロースゲル等で電気泳動し、泳動度の差により多型を検出することが可能である。

【0118】

ミスマッチの導入は、プライマーの標的植物ゲノムへの結合性を失わせず、また、多型を生じている塩基置換を変化させるものであってもならない。多型を生じている塩基置換を利用してその近傍にミスマッチを導入して、塩基置換とミスマッチの双方の組み合わせにより制限酵素認識に差異が生じるようにする。このようなミスマッチの導入法は当業者に公知であり、例えば、M i c h a e l s ,

S. D. and Amasino, R. M. (1998)、Neff, M. M. , Neff, J. D. , Chory, J. and Pepper, A. E. (1998) 等に詳述されている。

【0119】

このような場合のマーカ―は、前述のb) のCAPSマーカ―の改良であり、dCAPS (derived CAPS) マーカ―という。後述する実施例3のP9493 Bsl Iがこのような場合に相当する。

【0120】

なお、上記のb) またはc) の場合において、品種間の多型とは無関係の余分な制限酵素部位が多く存在すると、多型に基づく制限酵素部位認識の相違が識別しにくくなる場合がある。このような場合、必要に応じプライマーにミスマッチを導入し、不必要な制限酵素部位をつぶしてもよい。例えば、実施例3のB60304 Msp Iでは、Rプライマーにミスマッチを導入して多型と無関係なMsp I部位をつぶしている。

【0121】

限定されるわけではないが、CAPS法又はdCAPS法は、他のRFLP法等と比較していくつかの利点を有する。具体的には、例えば、RFLP法と比較して、少量のサンプルで分析できる。分析に要する時間および労力を大きく軽減できる、といった利点がある。マイクロサテライトマーカ―と比較しても、作成したPCRマーカ―の多型検出がアクリルアミド電気泳動よりも容易なアガロースゲル電気泳動で行えるという利点がある。

【0122】

本発明の識別方法の好ましい実施態様

以下、例示のために本発明の被検定イネがRf-1遺伝子を有するか否かを識別する方法の好ましい態様を記載する。本明細書の実施例においてRf-1遺伝子を有するインディカ型品種IR24の塩基配列（配列番号27）において、ジャポニカ型品種の対応する領域と比較した結果、少なくとも以下の1) - 8) の多型を有することを見出した。

【0123】

- 1) 配列番号 2 7 の塩基 1 2 3 9 に相当する塩基が A である ;
- 2) 配列番号 2 7 の塩基 6 2 2 7 に相当する塩基が A である ;
- 3) 配列番号 2 7 の塩基 2 0 6 8 0 に相当する塩基が G である ;
- 4) 配列番号 2 7 の塩基 4 5 4 6 1 に相当する塩基が A である ;
- 5) 配列番号 2 7 の塩基 4 9 6 0 9 に相当する塩基が A である ;
- 6) 配列番号 2 7 の塩基 5 6 3 6 8 に相当する塩基が T である ;
- 7) 配列番号 2 7 の塩基 5 7 6 2 9 に相当する塩基が C である ; 及び
- 8) 配列番号 2 7 の塩基 6 6 2 6 7 に相当する塩基が G である。

【 0 1 2 4 】

よって、本発明の好ましい実施態様において、上記 1) - 8) の条件のいずれか 1 つないし全部を満たす場合に、被検定イネの個体又は種子が R f - 1 遺伝子を有すると判断する。

【 0 1 2 5 】

さらに、本発明者らは配列番号 2 7 の塩基配列のうち、特に塩基 3 8 5 3 8 - 5 4 1 2 3、好ましくは、塩基 4 2 3 5 7 - 5 3 7 4 3、より好ましくは、塩基 4 2 1 3 2 - 4 8 8 8 3 に R f - 1 遺伝子の機能発現に必須の領域が含まれていることを確認した。よって、本発明の一態様において、配列番号 2 7 の塩基配列又は配列番号 2 7 の塩基 3 8 5 3 8 - 5 4 1 2 3 の塩基配列と、少なくとも 7 0 % 同一の塩基配列が、以下の条件 1) 及び 2) の少なくとも一つを満たす場合に、被検定イネの個体又は種子が R f - 1 遺伝子を有すると判断する :

- 1) 配列番号 2 7 の塩基 4 5 4 6 1 に相当する塩基が A である ; 及び
- 2) 配列番号 2 7 の塩基 4 9 6 0 9 に相当する塩基が A である。

【 0 1 2 6 】

上記の条件を満たすか否かは、公知の多型の検出方法を使用することが可能である。上記配列を含む隣接領域の塩基配列を直接決定してもよい。しかしながら、迅速性、簡便性の観点より、上述した CAPS 法又は dCAPS 法を採用することが好ましい。CAPS 法又は dCAPS 法は、例えば以下のように行うことが可能である。

【 0 1 2 7 】

i) 以下のいずれかの塩基、

- 1) 配列番号 27 の塩基 1 2 3 9 に相当する塩基；
- 2) 配列番号 27 の塩基 6 2 2 7 に相当する塩基；
- 3) 配列番号 27 の塩基 2 0 6 8 0 に相当する塩基；
- 4) 配列番号 27 の塩基 4 5 4 6 1 に相当する塩基；
- 5) 配列番号 27 の塩基 4 9 6 0 9 に相当する塩基；
- 6) 配列番号 27 の塩基 5 6 3 6 8 に相当する塩基；
- 7) 配列番号 27 の塩基 5 7 6 2 9 に相当する塩基；及び
- 8) 配列番号 27 の塩基 6 6 2 6 7 に相当する塩基

を含む隣接領域の塩基配列に基づいて、上記塩基と隣接領域の双方を増幅するようにプライマー対を作成し；

i i) 被検定イネ個体又は種子のゲノム DNA を鋳型として核酸増幅反応を行い；そして

i i i) 前記核酸増幅産物に見出される多型に基づいて被検定イネ個体又は種子が R f - 1 遺伝子の有無を識別する。

#### 【0128】

核酸増幅反応産物の多型の検出は、限定されるわけではないが、例えば以下の

1) - 8) の 1 つないし全てを満たす場合に被検定イネ個体又は種子が R f - 1 遺伝子を有すると判断する、ことにより行う。

#### 【0129】

1) 配列番号 27 の塩基 1 2 3 9 に相当する塩基を含む領域が、M b o I 認識配列を有しない；

2) 配列番号 27 の塩基 6 2 2 7 に相当する塩基を含む領域が、B s l I 認識配列を有しない；

3) 配列番号 27 の塩基 2 0 6 8 0 に相当する塩基を含む領域が、M b o I 認識配列を有する；

4) 配列番号 27 の塩基 4 5 4 6 1 に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない；

5) 配列番号 27 の塩基 4 9 6 0 9 に相当する塩基を含む領域が、B s t U

I 認識配列を有しない；

6) 配列番号 27 の塩基 56368 に相当する塩基を含む領域が、M s p I 認識配列を有しない；

7) 配列番号 27 の塩基 57629 に相当する塩基を含む領域が、B s a J I 認識配列を有しない；及び

8) 配列番号 27 の塩基 66267 に相当する塩基を含む領域が、X b a I 認識配列を有しない。

【0130】

ただし、上記 1) - 8) の領域の各多型を検出可能な制限酵素であれば、上記に限定されるものではない。

本発明の識別方法は、好ましくは、

i) 以下のいずれかの塩基、

1) 配列番号 27 の塩基 45461 に相当する塩基；又は

2) 配列番号 27 の塩基 49609 に相当する塩基；

を含む隣接領域の塩基配列に基づいて、上記塩基と隣接領域の双方を増幅するようにプライマー対を作成し；

i i) 被検定イネ個体又は種子のゲノム DNA を鋳型として核酸増幅反応を行い；そして

i i i) 前記核酸増幅産物に見出される多型に基づいて被検定イネ個体又は種子が R f - 1 遺伝子の有無を識別する。限定されるわけではないが、工程 i i i) が、以下の条件 1) 及び 2) の少なくとも一つを満たす場合に被検定イネ個体又は種子が R f - 1 遺伝子を有すると判断する：

1) 配列番号 27 の塩基 45461 に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない；及び

2) 配列番号 27 の塩基 49609 に相当する塩基を含む領域が、B s t U I 認識配列を有しない。

【0131】

上記の配列番号 27 の塩基 45461 は、1) 配列番号 69 の塩基 1769；  
2) 配列番号 70 の塩基 1767；3) 配列番号 71 の塩基 1772；4) 配列

番号 7 2 の塩基 1 7 6 2 ; 5) 配列番号 7 3 の塩基 1 7 0 3 ; 及び 6) 配列番号 7 4 の塩基 1 7 7 9、に相当する。

#### 【0 1 3 2】

増幅反応に使用するプライマー対は、配列番号 2 7 の塩基配列に基づき、好ましくは前述した条件を満たすように当業者が適宜選択可能である。好ましくは、配列番号 3 9 及び 4 0、配列番号 4 1 及び 4 2、配列番号 4 3 及び 4 4、配列番号 4 5 及び 4 6、配列番号 4 7 及び 4 8、配列番号 4 9 及び 5 0、配列番号 5 1 及び 5 2、並びに配列番号 5 3 及び 5 4 からなるグループから選択される塩基配列を有するいずれかのプライマー対を使用する。より好ましくは、プライマー対は、配列番号 4 5 及び 4 6、並びに配列番号 4 7 及び 4 8 からなるグループから選択される。または、必要であれば上記プライマー対の配列に基づき、多型部位およびその隣接領域の塩基配列に対する結合特異性を失わないように置換、欠失又は付加を施した配列をプライマーとして採用することも可能である。

#### 【0 1 3 3】

得られた PCR 産物を、制限酵素断片長多型に関して調べるため、それぞれの PCR マーカーに存在する制限部位に対応する制限酵素で切断する。この切断は、用いる制限酵素の推奨反応温度で数時間～一昼夜インキュベーションすることにより行う。制限酵素で切断したそれぞれの増幅 PCR サンプルは、例えば約 0.7 % ないし 2 % アガロースゲルあるいは約 3 % の MetaPhor<sup>TM</sup> アガロースゲルで電気泳動することにより解析する。例えば、ゲルをエチジウムブロマイド中紫外線下で可視化する。

#### 【0 1 3 4】

本発明の最も好ましい態様において、制限酵素による切断パターンとしては、可視化されたゲル上に、使用するプライマー対に応じて、以下の表 2 のようなバンドの存在の有無が確認される。

#### 【0 1 3 5】

#### 【表 2】

-----

検出されるバンドの

およそのサイズ (bp)

P4497 MboIによる増幅 制限酵素 MboI

(配列番号39および40)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を有する場合 (ホモ) : 730

有しない場合: 385、345

P9493 BslIによる増幅 制限酵素 BslI

(配列番号41および42)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を有する場合 (ホモ) : 126

有しない場合: 100、26

P23945 MboIによる増幅 制限酵素 MboI

(配列番号43および44)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を有する場合 (ホモ) : 160、100

有しない場合: 260

P41030 TaqIによる増幅 制限酵素 TaqI

(配列番号45および46)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を有する場合 (ホモ) : 280

有しない場合: 90、190

P45177 BstUIによる増幅 制限酵素 BstUI

(配列番号47および48)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を有する場合 (ホモ) : 20,65,730

有しない場合: 20,65,175,555

B60304 MspIによる増幅 制限酵素 MspI

(配列番号49および50)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を有する場合（ホモ）： 330

有しない場合： 220、110

-----  
B59066 BsaJIによる増幅 制限酵素 BsaJI

（配列番号51および52）

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を有する場合（ホモ）： 420

有しない場合： 65、355

-----  
B56691 XbaIによる増幅 制限酵素 XbaI

（配列番号53および54）

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を有する場合（ホモ）： 670

有しない場合： 140、530

-----  
【0136】

なお、後述の実施例3において、花粉稔性を有するRf-1遺伝子極近傍組換え個体（RS1-RS2、RC1-RC8）について、上記8種のプライマー対を含めた14種の多型マーカーを使用して、Rf-1領域の染色体構成を調べた。その結果、いずれの個体もP9493 BslIないし59066 BsaJIの間については、インディカ型品種由来のRf-1遺伝子を有することが確認された。この結果から、図3で示したような染色体構成をもつ組換え型花粉において、花粉の受精能力があること、すなわち、Rf-1遺伝子が機能していることが示された。これは、これらの組換え型花粉が共有するインディカ型領域、すなわち、最大限に見積もってもP4497 MboI座からB56691 XbaI座までの領域（約65kb）に、Rf-1遺伝子の機能の有無を決定する配列が含まれることを意味する。

【0137】

なお、本発明では、交雑による個体の出現頻度からS12564 Tsp509I座とRf-1座とが非常に近接しているとの予測に基づき、染色体歩行を始めた。実際、本発明の高精度分離分析の結果、両座の遺伝的距離は約0.04c



Mと算出された。現在公知となっているRf-1座連鎖マーカーのなかで、最も密接に連鎖しているマーカーは、先述の特開2000-139465に記載されているマーカーのひとつであるが、そのマーカーでもRf-1座との遺伝的距離は1 cMと記載されている。イネの場合、平均すると1 cMは300 kbに相当すると考えられており、特開2000-139465のマーカーを起点に染色体歩行を開始したのでは、Rf-1遺伝子領域の絞込みに相当の時間を要したと考えられる。

【0138】

#### VI. Rf-1遺伝子の稔性回復機能の抑制方法

本発明において、稔性回復機能を有する核酸を含む、稔性回復遺伝子(Rf-1)座を含む核酸が単離され、その全塩基配列が決定されたことにより、Rf-1遺伝子の稔性回復機能を遺伝子工学的に制御することが可能となった。よって、本発明は、さらに、Rf-1遺伝子の稔性回復機能を抑制する方法を提供する。

【0139】

本発明のRf-1遺伝子の稔性回復機能を抑制する方法は、例えば、配列番号27の塩基配列を有する核酸、又は配列番号27の塩基配列と少なくとも70%同一の塩基配列であって、稔性回復機能を有する核酸、に対し相補的な塩基配列から選択される、連続した少なくとも100塩基の長さのアンチセンスを導入する、ことを含む。

【0140】

本発明のRf-1遺伝子の稔性回復機能を抑制する方法は、一態様において、配列番号27の塩基38538-54123、好ましくは、塩基42357-53743、より好ましくは、塩基42132-48883の塩基配列を有する核酸、又は配列番号27の塩基38538-54123、好ましくは、塩基42357-53743、より好ましくは、塩基42132-48883の塩基配列と少なくとも70%同一の塩基配列であって、稔性回復機能を有する核酸、に対し相補的な塩基配列から選択される、連続した少なくとも100塩基の長さのアンチセンスを導入することを含む。

## 【 0 1 4 1 】

本発明の R f - 1 遺伝子の稔性回復機能を抑制する方法は、特に、好ましい一態様において、配列番号 7 5 のアミノ酸配列、又は配列番号 7 5 のアミノ酸配列と少なくとも 7 0 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸、に対し相補的な塩基配列から選択される、連続した少なくとも 1 0 0 塩基の長さのアンチセンスを導入することを含む。

## 【 0 1 4 2 】

最も好ましくは、配列番号 7 5 のアミノ酸配列、又は配列番号 7 5 のアミノ酸配列と少なくとも 7 0 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸は、以下の a) - j) の核酸から選択される：

- a) 配列番号 6 9 の塩基 2 1 5 - 2 5 8 7 を含む核酸；
- b) 配列番号 7 0 の塩基 2 1 3 - 2 5 8 5 を含む核酸；
- c) 配列番号 7 1 の塩基 2 1 8 - 2 5 9 0 を含む核酸；
- d) 配列番号 7 2 の塩基 2 0 8 - 2 5 8 0 を含む核酸；
- e) 配列番号 7 3 の塩基 1 4 9 - 2 5 2 1 を含む核酸；
- f) 配列番号 7 4 の塩基 2 2 5 - 2 5 9 7 を含む核酸；
- g) 配列番号 2 7 の塩基 4 3 9 0 7 - 4 6 2 7 9 を含む核酸；

h) 上記 a) - g) のいずれかの核酸と少なくとも 7 0 % 同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸；

i) 上記 a) - g) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のス 트리 ン ジ ェ ン ト な 条 件 下 で ハ イ ブ リ ダ イ ズ し、かつ、稔性回復機能を有する核酸；及び

j) 上記 a) - g) のいずれかの核酸に 1 ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸。

## 【 0 1 4 3 】

アンチセンスは、少なくとも 1 0 0 塩基以上、より好ましくは 5 0 0 塩基以上、最も好ましくは 1 0 0 0 塩基以上の長さである。導入の技術上の簡便性等の観点より、好ましくは 1 0 0 0 0 塩基以下、より好ましくは 5 0 0 0 塩基以下である。アンチセンスは、公知の方法により合成することが可能である。アンチセンスのイネへの導入は公知の方法により、例えば、T e r a d a e t a l. (

Plant Cell Physiol. 2000 Jul, 41 (7), p. 881-888) に記載の方法により行うことが可能である。

【0144】

また、限定されるわけではないが、Tos17 (Hirochika H. et al. 1996, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93, p. 7783-7788) などの転移因子の挿入変異系統のなかから、配列番号27の塩基配列内に転移因子が挿入された系統を選抜することにより、Rf-1が破壊された系統を育成することも可能であると考えられる。さらに、植物においても相同組換えにより遺伝子破壊が研究されている。その系の確立により、配列番号27の塩基配列を有する核酸、または配列番号27の塩基配列と少なくとも70%同一である核酸を用いて、Rf-1遺伝子を変異型Rf-1遺伝子に置換することにより、稔性回復機能を抑制することも可能であると考えられる。

【0145】

#### 参考文献

1. Fukuta et al. 1992, Jpn J. Breed. 42 (supl. 1) p. 164-165
2. 特開平7-222588
3. 特開平9-313187
4. 特開2000-139465
5. Harushima et al. 1998, Genetics 148 p. 479-494
6. Michaels and Amasino 1998, The Plant Journal 14 (3) p. 381-385
7. Neff et al. 1998, The plant Journal 14 (3) p. 387-392
8. D. E. Harry, et al., Theor Appl Genet (1998) 97: p. 327-336
9. Hiei et al., Plant Journal (1994)

- , 6 (2), p. 272-282
10. Komari et al., Plant Journal (1996) 10, p. 165-174
11. Ditta et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1980), 77:p. 7347-7351
12. P. Vos, ẽ, Nucleic Acids Res. Vol . 23, p. 4407-4414 (1995)
13. O. Parnaud, X. ẽ , Mol. Gen. Genet. (1996) 252:p. 597-607
14. A. Koniecznyẽ, (1993), Plant J. 4 (2) p. 403-410
15. Edwardsẽ, Nucleic Acids Res. 8 (6) : 1349, 1991
16. Murray M. G. ẽ, Nucleic Acids Res. . 8 (19) :4321-5, 1980
17. Terada et al., Plant Cell Physiol. 2000 Jul, 41 (7), p. 881-888
18. Hirochika H. et al. 1996, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93, p. 7783-7788
19. Cui, X., Wise, R. P. and Schanbl e, P. S. (1996) The rf2 nuclear restorer gene of male-sterile T-cytoplasm maize. Science, 272, 1334-1336
20. Liu, F., Cui, X., Horner, H. T., Weiner, H. and Schnable, P. S. (2001) Mitochondrial aldehyde dehydrogenase activity is required for male fertility in maize. The Plant Cell, 13, 1063-1078

【 0 1 4 6 】

## 【実施例】

以下、実施例によって本発明を具体的に説明するが、これらは本発明の技術的範囲を限定するためのものではない。当業者は本明細書の記載に基づいて容易に本発明に修飾・変更を加えることができ、それらは本発明の技術的範囲に含まれる。

【 0 1 4 7 】

参考例

以下の参考例は、本出願人の先の特許出願 特願 2 0 0 0 - 2 4 7 2 0 4 ( 2 0 0 0 年 8 月 1 7 日出願 ) に記載された実施例に基づく。

【 0 1 4 8 】

参考例 1 R f - 1 遺伝子座周辺 R F L P マーカーの P C R マーカー化

本参考例においては、R f - 1 遺伝子座周辺 R F L P マーカー 9 個 ( R 1 8 7 7、G 2 9 1、R 2 3 0 3、S 1 2 5 6 4、C 1 3 6 1、S 1 0 0 1 9、G 4 0 0 3、S 1 0 6 0 2、G 2 1 5 5 ) を P C R マーカー化した。

【 0 1 4 9 】

## ( 1 ) 材料および方法

R f - 1 遺伝子座周辺 R F L P マーカー 9 個 ( R 1 8 7 7、G 2 9 1、R 2 3 0 3、S 1 2 5 6 4、C 1 3 6 1、S 1 0 0 1 9、G 4 0 0 3、S 1 0 6 0 2、G 2 1 5 5 ) を農林水産省農業生物資源研究所から購入し、ベクター内の挿入塩基配列を決定した後、以下の手順で実験を行った。なお、本文中のイネ品種のうち、あそみのりはジャポニカ米であり、I R 2 4 はインディカ米である。

【 0 1 5 0 】

## ( 2 ) ゲノミク 라이브 ラリーの作製

あそみのりの緑葉から、C T A B 法により各々トータル DNA を抽出した。M b o I で部分消化後、N a C l 密度勾配遠心 ( 6 ~ 2 0 % 直線勾配、2 0 ℃、3 7 0 0 0 r p m、4 時間、全容量 1 2 m l ) によりサイズ分画を行った。各分画 ( 約 0. 5 m l ) の一部を電気泳動にかけ、1 5 ~ 2 0 k b の DNA を含む分画を選抜・精製した。ライブラリーの作製は、L a m b d a D A S H I I ( S

trata gene) をベクターに用いて、付属プロトコールに準拠して行った。パッケージングには、Giga Pack III Gold (Strata gene) を用いた。パッケージング後、SM Buffer  $500\mu\text{l}$  およびクロロフォルム  $20\mu\text{l}$  を添加した。遠心後の上清にクロロフォルム  $20\mu\text{l}$  を添加し、ライブラリー溶液とした。

#### 【0151】

ライブラリー溶液の50倍希釈液  $5\mu\text{l}$  を用いて、XL-1 Blue MR A (P2) に感染させた。その結果、あそみのりについては83個のプラークが出現した。ライブラリーあたりでは、 $4.15 \times 10^5 \text{ pfu}$  となり、平均挿入断片長を  $20\text{kb}$  とすると、 $8.3 \times 10^9 \text{ bp}$  をカバーする計算になる。これは、イネゲノム ( $4 \times 10^8 \text{ bp}$ ) に対して十分な大きさのライブラリーであると考えられた。

#### 【0152】

(3) R1877、C1361およびG4003対応ゲノミッククローンの単離

C1361およびG4003については、RFLPマーカープローブを含むプラスミドを単離した後、制限酵素処理・電気泳動により、RFLPマーカープローブ部分を分離し、DNA回収フィルター (Takara SUPREC-01) を用いて目的のDNAを回収した。R1877については、マーカープローブ両端部に対してプライマーを設計し、あそみのりトータルDNAをテンプレートにPCRを行い、産物を電気泳動後、前述の方法で回収した。回収したDNAは、rediprime DNA labelling system (Amersham Pharmacia) を用いてラベルし、ライブラリースクリーニング用プローブとした。なお、PCRは常法により行った (以下、同様)。

#### 【0153】

ライブラリーのスクリーニングは、プラークをHybond-N+ (Amersham Pharmacia) にブロットした後、常法により行った。1stスクリーニング後、陽性プラーク周辺を打ち抜き、SMバッファーに懸濁し、2ndスクリーニングに供試した。2ndスクリーニング後、陽性プラークを打ち

抜き、さらに3rdスクリーニングを行い、単一プラークを分離した。

【0154】

分離した目的プラークをSMバッファーに懸濁後、プレートライセート法によりファージを一次増殖した。得られたファージ増殖液を用いて、振とう培養法により二次増殖を行った後、Lambda starter kit (QIAGEN) を用いてファージDNAを精製した。

【0155】

各マーカーについて、8枚のプレートを用いて1stスクリーニングを行った。プレート1枚につきライブラリー溶液を10 $\mu$ l使用した。3rdスクリーニングまで行った結果、R1877、C1361およびG4003対応ゲノミッククローンを、それぞれ、4個、3個および3個単離した。

【0156】

(4) R1877のPCRマーカー化

単離したゲノミッククローンを解析し、RFLPの原因部位、即ち、IR24 (インディカ米) には存在しあそみのり (ジャポニカ米) には存在しないEcoRI部位を同定することにより、PCRマーカー化を行った。

【0157】

具体的には、単離した4クローンについて以下の解析を行った。まず、T3およびT7プライマーを用いて、各クローンの挿入断片の両末端の塩基配列を明らかにした。つぎに、マーカープローブ両端部に対して外向きのプライマーを設計し、T3およびT7プライマーと組合わせ (合計4プライマー組合せ)、各クローンをテンプレートにPCRを行った。

【0158】

また、各クローンをNotIおよびEcoRIで消化した後、電気泳動することにより、挿入断片長および各EcoRI断片長を推定した。

これらの解析の結果、各クローンの位置関係を明らかにすることができた。一方、RFLP解析ではマーカープローブR1877により日本晴 (ジャポニカ米) では20kb、Kasalath (インディカ米) では6.4kbのEcoRI断片が検出されること (ftp://ftp.staff.or.jp/pu

b/geneticmap98/parentsouthern/chr10/R1877.JPG) ことが知られている。これらの事実を併せ考えることにより、IR24には存在しあそみのりには存在しないEcoRI部位のおおよその位置が推定できた。そこで、その周辺を増幅するように設計したプライマー組合わせ（配列番号1と配列番号2）を用いて、94℃にて1分、58℃にて1分、72℃にて2分を1サイクルとし30サイクルのPCR条件にてゲノミックPCRを行った。得られたPCR産物をEcoRI処理した後、0.7%アガロースゲルで電気泳動した。

## 【0159】

その結果、あそみのり-IR24間で期待通りの多型が観察された。すなわち、PCR産物（約3200bp）のEcoRI処理により、IR24では1500bpと1700bpとに切断されるのに対し、あそみのりでは切断されなかった。あそみのり-IR24のRIL (Recombinant Inbred Line) を用いてこのPCRマーカーをマッピングした結果、RFLPマーカー座R1877と同一領域に位置づけられ、RFLPマーカーR1877がPCRマーカーに変換されたことが証明され、このマーカーをR1877 EcoRIと命名した。

## 【0160】

## (5) G4003のPCRマーカー化

単離したゲノミッククローンを解析し、RFLPの原因部位、即ち、あそみのりには存在しIR24には存在しないHindIII部位を同定することにより、PCRマーカー化を行った。

## 【0161】

R1877と同様の解析を行い、単離した3クローンの位置関係を明らかにした。RFLP解析ではマーカープローブG4003により日本晴（ジャポニカ米）では3kb、Kasalathでは10kb（インディカ米）のHindIII断片が検出されること（ftp://ftp.staff.or.jp/pub/geneticmap98/parentsouthern/chr10/R1877.JPG）ことが知られている。これらの事実を併せ考えることによ



り、あそみのりには存在し I R 2 4 には存在しない H i n d I I I 部位が、2 個の候補部位のいずれかであると推定された。そこで、各 H i n d I I I 部位周辺を増幅するように設計したプライマー組合せ（配列番号 3 および配列番号 4）を用いて、94℃にて 30 秒、58℃にて 30 秒、72℃にて 30 秒を 1 サイクルとし 35 サイクルの条件で、ゲノミック P C R を行った。得られた P C R 産物を H i n d I I I 処理後、2 % アガロースゲルで電気泳動したところ、マーカーブローブ内部の H i n d I I I 部位が多型部位であることが示された。すなわち、P C R 産物（362 bp）の H i n d I I I 処理により、あそみのりでは 95 bp と 267 bp とに切断されるのに対し、I R 2 4 では切断されなかった。マッピングの結果、R F L P マーカー G 4 0 0 3 が P C R マーカーに変換されたことが証明され、このマーカーを G 4 0 0 3 H i n d I I I（配列番号 19）と命名した。

#### 【0162】

##### （6）C 1 3 6 1 の P C R マーカー化

単離したゲノミッククローンの塩基配列情報に基づいてプライマーを設計した。あそみのりおよび I R 2 4 のトータル DNA をテンプレートに P C R を行い、産物を電気泳動後、既述の方法で回収した。回収した DNA をテンプレートに用いて、A B I M o d e l 310 により各品種の塩基配列を解読し、多型作出に利用可能な変異を探索した。

#### 【0163】

R 1 8 7 7 と同様の解析を行い、単離した 3 クローンのおおよその位置関係を明らかにすることはできた。しかし、C 1 3 6 1 マーカー周辺には P C R 増幅しにくい領域や塩基配列を解読できない領域が存在することが明らかになり、R F L P 原因部位を同定することは困難であると考えられた。そこで、比較的長い P C R 産物（2.7 kb）が得られる領域に着目し、d C A P S 化を試みることにした。

#### 【0164】

具体的には、あそみのり、コシヒカリ（以上、ジャポニカ米）及び K a s a l a t h、I R 2 4（以上、インディカ米）を用いて、前記領域のゲノミック P C

R産物の塩基配列を比較した結果、ジャポニカ米・インディカ米間で多型を示す部位を6ヶ所見出すことができた。そのうちのひとつについて、dCAPS化を行った。この過程で、プライマーとして配列番号5および配列番号6を用い、94℃にて30秒、58℃にて30秒、72℃にて30秒を1サイクルとし35サイクルのPCR条件にてPCRを行った。得られたPCR産物をMwoI処理後、3%MetaPhor<sup>TM</sup>アガロースで電気泳動することにより解析した。あそみのりでは2箇所で見断され、約25bp、50bp、79bpのバンドが観察され、IR24では1箇所で見断され、約50bp、107bpのバンドが観察された。マッピングの結果、RFLPマーカーC1361がPCRマーカーに変換されたことが証明され、このマーカーをC1361 MwoI（配列番号20）と命名した。

#### 【0165】

##### （7）G2155のPCRマーカー化

マーカープローブ両端部に対してプライマーを設計し、あそみのり、コシヒカリ、IR24およびIL216（戻し交雑によりコシヒカリにRf-1遺伝子を導入した系統、遺伝子型はRf-1/Rf-1）のトータルDNAをテンプレートにPCRを行った。PCR産物の精製および多型作出に利用可能な変異の探索は、既述の方法で行った。

#### 【0166】

具体的には、供試品種の対応領域の塩基配列を比較した結果、Rf-1遺伝子保有品種系統（IR24およびIL216）とRf-1遺伝子非保有品種系統（あそみのりおよびコシヒカリ）との間の変異が3ヶ所見出された。そのうちのひとつを利用して、dCAPS化を行った。この過程で、プライマーとして配列番号7及び配列番号8を用い、94℃にて30秒、58℃にて30秒、72℃にて30秒を1サイクルとし35サイクルのPCR条件にてPCRを行った。得られたPCR産物をMwoI処理後、3%MetaPhor<sup>TM</sup>アガロースで電気泳動することにより解析した。あそみのりでは1箇所で見断され、約25bp及び105bpのバンドが観察され、IR24では2箇所で見断され、約25bp、27bp及び78bpのバンドが観察された。マッピングの結果、RFLPマーカー

ーG2155がPCRマーカーに変換されたことが証明され、このマーカーをG2155 Mwo I（配列番号21）と命名した。

【0167】

（8）G291のPCRマーカー化

マーカープローブ内部配列に対してプライマーを設計し、種々のプライマー組合せでPCRを行い、期待される大きさの増幅産物が得られるプライマー組合せを探索した。探索により見出したプライマー組合せで、あそみのり、コシヒカリ、IR24およびIL216のトータルDNAをテンプレートにPCRを行った。PCR産物の精製および多型作出に利用可能な変異の探索は、既述の方法で行った。

【0168】

具体的には、マーカープローブ配列に対して設計したプライマーを用いて、供試品種のゲノミックPCRを行い、産物の塩基配列を比較した。その結果、Rf-1遺伝子保有品種系統（IR24およびIL216）とRf-1遺伝子非保有品種系統（あそみのりおよびコシヒカリ）との間の変異が4ヶ所見出された。そのうちのひとつを利用して、dCAPS化を行った。この過程で、プライマーとして配列番号9及び配列番号10を用い、94℃にて30秒、58℃にて30秒、72℃にて30秒を1サイクルとし35サイクルのPCR条件にてPCRを行った。得られたPCR産物をMsp I処理後、3%MetaPhor<sup>TM</sup>アガロースで電気泳動することにより解析した。Rf-1遺伝子保有品種系統では2箇所切断され、約25bp、49bp及び55bpのバンドが観察され、Rf-1遺伝子非保有品種系統では1箇所切断され、約25bp及び104bpのバンドが観察された。マッピングの結果、RFLPマーカーG291がPCRマーカーに変換されたことが証明され、このマーカーをG291 Msp I（配列番号22）と命名した。

【0169】

（9）R2303のPCRマーカー化

マーカープローブ内部配列に対してプライマーを設計し、あそみのり（ジャポニカ米）、IR24およびKasalath（インディカ米）のトータルDNA

をテンプレートにPCRを行った。産物の精製および多型作出に利用可能な変異の探索は、既述の方法で行った。

#### 【0170】

供試品種の対応領域の塩基配列を比較した結果、ジャポニカ米ーインディカ米間の変異が見出された。この変異は、B s l I 認識部位に生じていたので、そのままCAPSマーカーとした。この過程で、プライマーとして配列番号11及び配列番号12を用い、94℃にて1分、58℃にて1分、72℃にて2分を1サイクルとし30サイクルのPCR条件にてPCRを行った。得られたPCR産物をB s l I 処理後、2%アガロースで電気泳動することにより解析した。ジャポニカ米では1箇所切断され、約238bp及び1334bpのバンドが観察され、インディカ米では2箇所切断され、約238bp、655bp及び679bpのバンドが観察された。マッピングの結果、RFLPマーカーR2303がPCRマーカーに変換されたことが証明され、このマーカーをR2303 B s l I (配列番号23)と命名した。

#### 【0171】

##### (10) S10019のPCRマーカー化

S10019のPCRマーカー化は、上記R2303のPCRマーカー化の方法(9)にしたがって行った。

#### 【0172】

具体的には、供試品種の対応領域の塩基配列を比較した結果、ジャポニカ米ーインディカ米間の変異が見出された。この変異は、B s t U I 認識部位に生じていたので、そのままCAPSマーカーとした。この過程で、プライマーとして配列番号13及び配列番号14を用い、94℃にて1分、58℃にて1分、72℃にて1分を1サイクルとし30サイクルのPCR条件にてPCRを行った。得られたPCR産物をB s t U I 処理後、2%アガロースで電気泳動することにより解析した。ジャポニカ米では1箇所切断され、約130bp及び462bpのバンドが観察され、インディカ米では2箇所切断され、約130bp、218bp及び244bpのバンドが観察された。マッピングの結果、RFLPマーカーS10019がPCRマーカーに変換されたことが証明され、このマーカーを

BstUI (配列番号24) と命名した。

【0173】

(11) S10602のPCRマーカ－化

S10602のPCRマーカ－化は、上記R2303のPCRマーカ－化の方法(9)にしたがって行った。

【0174】

具体的には、供試品種の対応領域の塩基配列を比較した結果、ジャポニカ米ーインディカ米間の変異が見出された。その変異を利用して、CAPS化を行った。この過程で、プライマーとして配列番号15及び配列番号16を用い、94℃にて1分、58℃にて1分、72℃にて1分を1サイクルとし33サイクルのPCR条件にてPCRを行った。得られたPCR産物をKpnI処理後、2%アガロースで電気泳動することにより解析した。ジャポニカ米では1箇所切断され、約117bp及び607bpのバンドが観察され、インディカ米では切断されず、724bpのバンドが観察された。マッピングの結果、RFLPマーカ－S10602がPCRマーカ－に変換されたことが証明され、このマーカ－をS10602 KpnI (配列番号25) と命名した。

【0175】

(12) S12564のPCRマーカ－化

S12564のPCRマーカ－化は、R2303のPCRマーカ－化の方法にしたがって行った。

【0176】

具体的には、供試品種の対応領域の塩基配列を比較した結果、ジャポニカ米ーインディカ米間の変異が見出された。その変異を利用して、dCAPS化を行った。この過程で、プライマーとして配列番号17及び配列番号18を用い、94℃にて30秒、58℃にて30秒、72℃にて30秒を1サイクルとし35サイクルのPCR条件にてPCRを行った。得られたPCR産物をTsp509I処理後、3%MetaPhor<sup>TM</sup>アガロースで電気泳動することにより解析した。ジャポニカ米では2箇所切断され、26bp、41bp及び91bpのバンドが観察され、インディカ米では1箇所切断され、41bp及び117bpのバ

ンドが観察された。マッピングの結果、RFLPマーカーS12564がPCRマーカーに変換されたことが証明され、このマーカーをS12564 Tsp509I（配列番号26）と命名した。

【0177】

#### 参考例2 Rf-1遺伝子座のマッピング

MSコシヒカリにMS-FRコシヒカリの花粉をかけて作成したF1集団1042個体の幼苗からDNAを抽出し、分析に供試した。ここで、MSコシヒカリとは、細胞質をBT型雄性不稔細胞質に置換したコシヒカリである（世代：BC10F1）。また、MS-FRコシヒカリとは、IR8（農業生物資源研究所より入手）に由来するRf-1遺伝子をMSコシヒカリに導入した系統である（Rf-1遺伝子座ヘテロ）。

【0178】

まず、Rf-1遺伝子座を挟むと考えられる、参考例1に記載の2個のマーカー座R1877 EcoRIおよびG2155 MwoIにおける各個体の遺伝子型を調査した。R1877 EcoRI座またはG2155 MwoI座に関してジャポニカ米型ホモ個体を、これら2マーカー座間での組換え体とみなした。つぎに、各組換え体について、さらに、G291 MspI座、R2303 BslI座、S12564 Tsp509I座、C1361 MwoI座、S10019 BstUI座、G4003 HindIII座およびS10602 KpnI座の遺伝子型を調査し、組換え位置を同定した。

【0179】

R1877 EcoRI座およびG2155 MwoI座に関する遺伝子型調査の結果、稈性を回復した46個体がRf-1遺伝子座付近での組換え体であることが明らかになった。これら組換え体について、Rf-1遺伝子座近傍マーカー座の遺伝子型を調査した結果を表3に示す。

【0180】

【表 3】

表 3 Af-1 座近傍組換え個体のマーカー一座遺伝子型

[illegible]

J コシヒカリ型ホモ  
H コシヒカリ型/MS-FRコシヒカリ型ヘテロ

【0 1 8 1】

表3に示されたように、S12564 Tsp509Iマーカがジャポニカ型である個体8と、C1361 MwoI座マーカがジャポニカ型である個体9および個体10が得られた。いずれも稔性を回復した個体であることから、前者はRf-1座とS12564 Tsp509I座との間での組換え個体、Rf-1座とC1361 MwoI座との間での組換え個体と解し、Rf-1遺伝子は

S12564 Tsp509I座とC1361 MwoI座との間に存在することが判明した。上記交配において、BT型雄性不稔細胞質を持つ個体では、Rf-1遺伝子をもつ花粉のみが受精能力を持つとの報告(C. Shinjyo, JAPAN. J. GENETICS Vol. 44, No. 3: 149-156 (1969))に基づいて、Rf-1遺伝子座を詳細連鎖地図上に位置づけることができた(図4)

【0182】

#### 実施例1 Rf-1座極近傍組換え個体の獲得

(材料および方法)

MSコシヒカリ(世代: BC10F1)にMS-FRコシヒカリ(世代: BC9F1、Rf-1座ヘテロ)の花粉をかけて作成したBC10F1集団4103個体を用い、各個体からDNAを抽出し、上記参考例2と同様に、S12564 Tsp509I座およびC1361 MwoI座の遺伝子型を調査した。S12564 Tsp509I座の遺伝子型がコシヒカリ型ホモ個体を、Rf-1座とS12564 Tsp509I座との間での組換えにより生じた個体とみなし、C1361 MwoI座の遺伝子型がコシヒカリ型ホモ個体を、Rf-1座とC1361 MwoI座との間での組換えにより生じた個体とみなした。

【0183】

(結果および考察)

4103個体を調査した結果、Rf-1座とS12564 Tsp509I座との間での組換え個体を1個体、Rf-1座とC1361 MwoI座との間での組換え個体を6個体見出した。一方、上記参考例2において交配により得られた1042個体を調査した結果、表3に示したように、Rf-1座とS12564 Tsp509I座との間での組換え個体を1個体、Rf-1座とC1361 MwoI座との間での組換え個体を2個体見出している。

【0184】

合計すると、5145個体から、Rf-1座とS12564 Tsp509I座との間での組換え個体を2個体、Rf-1座とC1361 MwoI座との間での組換え個体を8個体獲得できたことになる。これら10個体を以下の実施例



における高精度分離分析に供試することにした。

【0185】

## 実施例2 染色体歩行

### (1) 1回目染色体歩行

(材料および方法)

ジャポニカ品種あそみのり (Rf-1 非保有品種) のゲノムDNAを用いて、参考例1に記載したようにLambda DASH IIベクターによりゲノミックライブラリーを作成し、染色体歩行に供試した。

RFLPプローブ S12564の部分塩基配列 (アクセッション番号D47284) に対して次のプライマー対:

【0186】

【化1】

5' -atcaggagccttcaaattgggaac-3' (配列番号29) および

5' -ctcgcaaattgcttaattttgacc-3' (配列番号30)

を設計し、あそみのりトータルDNAをテンプレートに用いて、定法に従いPCRを行った。得られた約1200bpの増幅産物を、アガロースゲルでの電気泳動後、QIAEXII (QIAGEN社) を用いて精製した。精製したDNAは、rediprime DNA labelling system (Amersham Pharmacia社) を用いてラベルし、ライブラリースクリーニング用プローブ (プローブA、図1) とした。

【0187】

ライブラリーのスクリーニングは、ブランクをHybond-N<sup>+</sup> (Amersham Pharmacia社) にブロットした後、常法により行った。単一ブランクを分離した後、Lambda Midi kit (QIAGEN社) を用いてプレートライセート法によりファージDNAを精製した。

【0188】

(結果および考察)

スクリーニングにより4個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちのふたつ (WSA1およびWSA3) は

図1に示した位置関係にあることが示された。プライマー歩行により、WSA1およびWSA3に対応するあそみのりゲノム塩基配列を決定した（DNAシーケンサー377、ABI社）。

【0189】

(2) 2回目染色体歩行

(材料および方法)

既述のあそみのりゲノミックライブラリーに加え、インディカ品種IR24（Rf-1保有品種）のゲノムDNAから同様に作成したIR24ゲノミックライブラリーを、染色体歩行に供試した。

(1) で明らかにしたあそみのりゲノム塩基配列に対して次のプライマー対：

【0190】

【化2】

5' - tgaaggagttatgggtgcgtgacg - 3' (配列番号31) および

5' - ttgccgagcacacttgccatgtgc - 3' (配列番号32)

を設計し、WSA3のDNAをテンプレートに用いて、定法に従いPCRを行った。得られた524bpの増幅産物を、既述の方法で精製・ラベルし、ライブラリースクリーニング用プローブ（プローブE、図1）とした。

ライブラリーのスクリーニングおよびファージDNAの精製は、既述の方法で行った。

【0191】

(結果および考察)

あそみのりゲノミックライブラリースクリーニングにより15個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちのひとつ（WSE8）は図1に示した位置関係にあることが示された。プライマー歩行により、WSE8に対応するあそみのりゲノム塩基配列を決定した。

【0192】

IR24ゲノミックライブラリースクリーニングにより7個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちのふたつ（XSE1およびXSE7）は図1に示した位置関係にあることが示された。

プライマー歩行により、XSE1およびXSE7に対応するIR24ゲノム塩基配列を決定した。

### 【0193】

#### (3) 3回目染色体歩行

(材料および方法)

既述のあそみのりゲノミックライブラリーおよびIR24ゲノミックライブラリーを、染色体歩行に供試した。

(2) で明らかにしたあそみのりゲノム塩基配列に対して次のプライマー対：

### 【0194】

#### 【化3】

5' -gcgacgcaatggacatagtgtctcc-3' (配列番号33) および

5' -ttacctgccaagcaatatccatcg-3' (配列番号34)

を設計し、WSE8のDNAをテンプレートに用いて、定法に従いPCRを行った。得られた1159bpの増幅産物を、既述の方法で精製・ラベルし、ライブラリースクリーニング用プローブ（プローブF、図1）とした。

ライブラリーのスクリーニングおよびファージDNAの精製は、既述の方法で行った。

### 【0195】

(結果および考察)

あそみのりゲノミックライブラリースクリーニングにより8個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちのふたつ（WSF5およびWSF7）は図1に示した位置関係にあることが示された。プライマー歩行により、WSF5およびWSF7に対応するあそみのりゲノム塩基配列を決定した。

### 【0196】

IR24ゲノミックライブラリースクリーニングにより13個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちのふたつ（XSF4およびXSF20）は図1に示した位置関係にあることが示された。プライマー歩行により、XSF4およびXSF20に対応するIR24ゲノ

ム塩基配列を決定した。

【0197】

(4) 4回目染色体歩行

(材料および方法)

既述のあそみのりゲノミックライブラリーおよびIR24ゲノミックライブラリーを、染色体歩行に供試した。

(3) で明らかにしたあそみのりゲノム塩基配列に対してプライマー対：

【0198】

【化4】

5' -aaggcatactcagtggagggaag- 3' (配列番号35) および

5' -ttaacctgaccgcaagcacctgtc- 3' (配列番号36)

を設計し、WSF7のDNAをテンプレートに用いて、定法に従いPCRを行った。得られた456bpの増幅産物を、既述の方法で精製・ラベルし、ライブラリースクリーニング用プローブ（プローブG、図1）とした。

ライブラリーのスクリーニングおよびファージDNAの精製は、既述の方法で行った。

【0199】

(結果および考察)

あそみのりゲノミックライブラリースクリーニングにより6個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちのふたつ（WSG2およびWSG6）は図1に示した位置関係にあることが示された。プライマー歩行により、WSG2およびWSG6に対応するあそみのりゲノム塩基配列を決定した。

【0200】

IR24ゲノミックライブラリースクリーニングにより14個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちの3クローン（XSG8、XSG16およびXSG22）は図1に示した位置関係にあることが示された。プライマー歩行により、XSG8、XSG16およびXSG22に対応するIR24ゲノム塩基配列を決定した。

## 【0201】

## (5) 5回目染色体歩行

## (材料および方法)

既述のIR24ゲノミックライブラリーを、染色体歩行に供試した。

本発明者らは、TIGR (The Institute for Genomic Research) の公開ホームページを閲覧し、RFLPマーカーS12564を包含するBAC (Bacterial Artificial Chromosome) クローン (アクセッション番号AC068923) が公開データベース (GenBank) に登録されていることを見出した。このBACクローンは、ジャポニカ品種日本晴のゲノムDNAを含むものであり、塩基配列を比較したところ、(1) - (4) で作成したあそみのりおよびIR24のコンテイング領域を完全に包含することが示された (図2)。

そこで、このBACクローンの一部を増幅する次のプライマー対：

## 【0202】

## 【化5】

5' - tggatggactatgtggggtcagtc - 3' (配列番号37) および

5' - agtggaagtggagagagtagggag - 3' (配列番号38)

を設計し、IR24トータルDNAをテンプレートに用いて、定法に従いPCRを行った。得られた約600bpの増幅産物を、既述の方法で精製・ラベルし、ライブラリースクリーニング用プローブ (プローブH、図1) とした。

ライブラリーのスクリーニングおよびファージDNAの精製は、既述の方法で行った。

## 【0203】

## (結果および考察)

IR24ゲノミックライブラリースクリーニングにより15個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちのひとつ (XSH18) は図1に示した位置関係にあることが示された。プライマー歩行により、XSH18に対応するIR24ゲノム塩基配列を決定した。

## 【0204】

実施例 3 高精度分離分析

## (1) PCRマーカー P4497 MboI の開発

実施例 2 で明らかにした IR24 コンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号 27）とあそみのりコンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号 28）とを比較した結果、配列番号 27 の 1239 番目の塩基が A であるのに対し、当該位置に対応する配列番号 28 の 12631 番目の塩基は G であることを見出した。

この差異の検出には、先ず次のプライマー対：

【0205】

【化 6】

P4497 MboI F：

5' -ccctccaacacataaatggttgag-3' （配列番号 39）

（配列番号 27 の塩基 853-876 に相当）

（配列番号 28 の塩基 12247-12270 に相当）

および

P4497 MboI R：

5' -tttctgccaggaaactgttagatg-3' （配列番号 40）

（配列番号 27 の塩基 1583-1560 に相当）

（配列番号 28 の塩基 12975-12952 に相当）

を用いて当該部位周辺の PCR 増幅を行い約 730bp の断片を増幅する。増幅産物を MboI 処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、IR24 DNA からの増幅産物は MboI の認識配列（GATC）をもたず、MboI 処理により切断されないのに対し、あそみのり DNA からの増幅産物は MboI の認識配列をもち、MboI 処理により切断されるため、MboI 処理後の DNA 鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

【0206】

## (2) PCRマーカー P9493 BslI の開発

実施例 2 で明らかにした IR24 コンティグに対応するゲノム塩基配列（配列

番号27)とあそみのりコンティグに対応するゲノム塩基配列(配列番号28)とを比較した結果、配列番号27の6227番目の塩基がAであるのに対し、当該位置に対応する配列番号28の17627番目の塩基はCであることを見出した。

この差異の検出には、先ず次のプライマー対:

【0207】

【化7】

P9493 BslI F:

5' -gcgatcttatacgcatactatgcg-3' (配列番号41)

(配列番号27の塩基6129-6152に相当)

(配列番号28の塩基17529-17552に相当)

および

P9493 BslI R:

5' -aaagtctttgttccttcaccaagg-3' (配列番号42)

(配列番号27の塩基6254-6231に相当)

(配列番号28の塩基17654-17631に相当)

を用いて当該部位周辺のPCR増幅を行い126bpの断片を増幅する。増幅産物をBslI処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、IR24DNAからの増幅産物はBslIの認識配列(CCNNNNNNNGG)をもたず、BslI処理により切断されないのに対し、あそみのりDNAからの増幅産物はBslIの認識配列をもち、BslI処理により切断されるため、BslI処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

【0208】

なお、本マーカーの開発には、dCAPS法(Michaels and Masino 1998, Neff et al 1998)を適用した。具体的には、前記P9493 BslI Rプライマーの使用により、配列番号27の6236および配列番号28の17636のaがgに置換される。これにより、あそみのりDNA由来の断片は、配列番号28の17626-17636の

部分の配列がCCtttcccttGGとなり、BslI処理により切断される。

【0209】

### (3) PCRマーカーP23945 MboIの開発

実施例2で明らかにしたIR24コンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号27）とあそみのりコンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号28）とを比較した結果、配列番号27の20680番目の塩基がGであるのに対し、当該位置に対応する配列番号28の32079番目の塩基はAであることを見出した。

この差異の検出には、先ず次のプライマー対：

【0210】

【化8】

P23945 MboI F：

5' -gaggatttatcaaaacaggatggacg-3' （配列番号43）

（配列番号27の塩基20519-20544に相当）

（配列番号28の塩基31918-31943に相当）

および

P23945 MboI R：

5' -tgggcggcagcagtgaggataga-3' （配列番号44）

（配列番号27の塩基20778-20755に相当）

（配列番号28の塩基32177-32154に相当）

を用いて当該部位周辺のPCR増幅を行い260bpの断片を増幅する。増幅産物をMboI処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、IR24DNAからの増幅産物はMboIの認識配列（GATC）をもち、MboI処理により切断されるのに対し、あそみのりDNAからの増幅産物はMboIの認識配列をもたず、MboI処理により切断されないため、MboI処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

【0211】

### (4) PCRマーカーP41030 TaqIの開発



実施例 2 で明らかにした I R 2 4 コンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号 2 7）とあそみのりコンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号 2 8）とを比較した結果、配列番号 2 7 の 4 5 4 6 1 番目の塩基が A であるのに対し、当該位置に対応する配列番号 2 8 の 4 9 1 6 4 番目の塩基は G であることを見出した。

この差異の検出には、先ず次のプライマー対：

【0 2 1 2】

【化 9】

P 4 1 0 3 0   T a q I   F :

5' - a a g a a g g g a g g g t t a t a g a a t c t g - 3'      (配列番号 4 5)

(配列番号 2 7 の塩基 4 5 3 6 9 - 4 5 3 9 2 に相当)

(配列番号 2 8 の塩基 4 9 0 7 2 - 4 9 0 9 5 に相当)

および

P 4 1 0 3 0   T a q I   R :

5' - a t a t c a g g a c t a a c a c c a c t g c t c - 3'      (配列番号 4 6)

(配列番号 2 7 の塩基 4 5 6 4 8 - 4 5 6 2 5 に相当)

(配列番号 2 8 の塩基 4 9 3 5 1 - 4 9 3 2 8 に相当)

を用いて当該部位周辺の P C R 増幅を行い 2 8 0 b p の断片を増幅する。増幅産物を T a q I 処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、I R 2 4 DNA からの増幅産物は T a q I の認識配列（T C G A）をもたず、T a q I 処理により切断されないのに対し、あそみのり DNA からの増幅産物は T a q I の認識配列をもち、T a q I 処理により切断されるため、T a q I 処理後の DNA 鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

【0 2 1 3】

(5) P C R マーカ P 4 5 1 7 7   B s t U I の開発

実施例 2 で明らかにした I R 2 4 コンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号 2 7）とあそみのりコンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号 2 8）とを比較した結果、配列番号 2 7 の 4 9 6 0 9 番目の塩基が A であるのに対し、

当該位置に対応する配列番号 2 8 の 5 3 3 1 1 番目の塩基は G であることを見出した。

この差異の検出には、先ず次のプライマー対：

【 0 2 1 4 】

【 化 1 0 】

P 4 5 1 7 7 B s t U I F :

5' - acgagtagtagcgatcttccagcg - 3' (配列番号 4 7)

(配列番号 2 7 の塩基 4 9 3 5 5 - 4 9 3 7 8 に相当)

(配列番号 2 8 の塩基 5 3 0 5 7 - 5 3 0 8 0 に相当)

および

P 4 5 1 7 7 B s t U I R :

5' - cagcgtgaaactaaaaacggaggc - 3' (配列番号 4 8)

(配列番号 2 7 の塩基 5 0 1 6 6 - 5 0 1 4 3 に相当)

(配列番号 2 8 の塩基 5 3 8 6 8 - 5 3 8 4 5 に相当)

を用いて当該部位周辺の PCR 増幅を行い 8 1 2 b p の断片を増幅する。増幅産物を B s t U I 処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、I R 2 4 DNA からの増幅産物は B s t U I の認識配列 (C G C G) を 2 箇所もち、B s t U I 処理により 3 個の断片に切断されるのに対し、あそみのり DNA からの増幅産物は B s t U I の認識配列を 3 箇所もち、B s t U I 処理により 4 個の断片に切断されるため、B s t U I 処理後の DNA 鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

【 0 2 1 5 】

(6) PCR マーカー B 6 0 3 0 4 M s p I の開発

実施例 2 で明らかにした I R 2 4 コンティグに対応するゲノム塩基配列 (配列番号 2 7) と既述の B A C クローン (アクセッション番号 A C 0 6 8 9 2 3) の塩基配列とを比較した結果、配列番号 2 7 の 5 6 3 6 8 番目の塩基が T であるのに対し、当該位置に対応する A C 0 6 8 9 2 3 の塩基は C であることを見出した。

この差異の検出は、先ず次のプライマー対：

【0216】

【化11】

B60304 MspI F：

5' -atccacatcatcataatccgacc-3' (配列番号49)

(配列番号27の塩基56149-56172に相当)

および

B60304 MspI R：

5' -agcttctcccttggatacgggtggcg-3' (配列番号50)

(配列番号27の塩基56479-56455に相当)

を用いて当該部位周辺のPCR増幅を行い約330bpの断片を増幅する。増幅産物をMspI処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、IR24DNAからの増幅産物はMspIの認識配列(CCGG)をもたず、MspI処理により切断されないのに対し、日本晴DNAからの増幅産物はMspIの認識配列をもち、MspI処理により切断されるため、MspI処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

【0217】

なお、本マーカーの開発には、dCAPS法を適用した。具体的には、B60304 MspI Rプライマーの使用により、配列番号27の56463のgがtに置換される。これにより、配列番号27の56460-56463のMspIの認識配列CCGGがccgtとなり、MspIによって切断されなくなる。よって、IR24由来の断片はMspIの認識配列を一つも有さず、一方、日本晴由来のDNAは、配列番号27の56367-56370に対応する領域に1箇所MspIの認識配列を有することとなる。

【0218】

(7) PCRマーカーB59066 BsaJIの開発

実施例2で明らかにしたIR24コンティグに対応するゲノム塩基配列(配列番号27)と既述のBACクローン(アクセッション番号AC068923)の

塩基配列とを比較した結果、配列番号27の57629番目の塩基がCであるのに対し、当該位置に対応するAC068923の塩基はCCであることを見出した。

この差異の検出は、先ず次のプライマー対：

【0219】

【化12】

B59066 BsaJI F：

5' -atttggttggttagttgcggctgag-3' (配列番号51)

(配列番号27の塩基57563-57586に相当)

および

B59066 BsaJI R：

5' -gcccaaactcaaaaggagagaacc-3' (配列番号52)

(配列番号27の塩基57983-57960に相当)

を用いて当該部位周辺のPCR増幅を行い約420bpの断片を増幅する。増幅産物をBsaJI処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、IR24DNAからの増幅産物はBsaJIの認識配列(CCNNGG)をもたず、BsaJI処理により切断されないのに対し、日本晴DNAからの増幅産物はBsaJIの認識配列をもち、BsaJI処理により切断されるため、BsaJI処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

【0220】

(8) PCRマーカーB56691 XbaIの開発

実施例2で明らかにしたIR24コンティグに対応するゲノム塩基配列(配列番号27)と既述のBACクローン(アクセッション番号AC068923)の塩基配列とを比較した結果、配列番号27の66267番目の塩基がGであるのに対し、当該位置に対応するAC068923の塩基はCであることを見出した。

この差異の検出は、先ず次のプライマー対：

【0221】

【化13】

B56691 XbaI F:

5' -cctcaagtctcccctaaagccact-3' (配列番号53)

(配列番号27の塩基66129-66152に相当)

および

B56691 XbaI R:

5' -gctctactgctgataaacgtgag-3' (配列番号54)

(配列番号27の塩基66799-66776に相当)

を用いて当該部位周辺のPCR増幅を行い約670bpの断片を増幅する。増幅産物をXbaI処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、IR24DNAからの増幅産物はXbaIの認識配列(TCTAGA)をもたず、XbaI処理により切断されないのに対し、日本晴DNAからの増幅産物はXbaIの認識配列をもち、XbaI処理により切断されるため、XbaI処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

【0222】

(9) PCRマーカーB53627 BstZ17Iの開発

実施例2で明らかにしたIR24コンティグに対応するゲノム塩基配列(配列番号27)と既述のBACクローン(アクセッション番号AC068923)の塩基配列とを比較した結果、配列番号27の69331番目の塩基がTであるのに対し、当該位置に対応するAC068923の塩基はCであることを見出した。

この差異の検出は、先ず次のプライマー対:

【0223】

【化14】

B53627 BstZ17I F:

5' -tggatggactatgtggggtcagtc-3' (配列番号55)

(配列番号27の塩基68965-68988に相当)

および

B 5 3 6 2 7 B s t Z 1 7 I R :

5' - agt gga agt gga gaga gtagggag - 3' (配列番号 56)

(配列番号 27 の塩基 69582 - 69559 に相当)

を用いて当該部位周辺の PCR 増幅を行い約 620bp の断片を増幅する。  
増幅産物を B s t Z 1 7 I 処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、  
可視化することができる。すなわち、I R 24 DNA からの増幅産物は B s t Z  
1 7 I の認識配列 (G T A T A C) をもち、X b a I 処理により切断されるのに  
対し、日本晴 DNA からの増幅産物は B s t Z 1 7 I の認識配列をもたず、B s  
t Z 1 7 I 処理により切断されないため、B s t Z 1 7 I 処理後の DNA 鎖長が  
異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

【0224】

(10) PCR マーカー B 4 0 9 3 6 M s e I の開発

以下の (10) - (12) の PCR マーカーの開発はいずれも、配列番号 27  
の 3' 末端 76363 よりもさらに下流 (3' 末端) 側に相当する塩基配列につ  
いての研究に関する。

既述の BAC クローン (アクセッション番号 A C 0 6 8 9 2 3) の塩基配列に  
対して、次のプライマー対:

【0225】

【化 15】

5' - tac gac gcc att t cact cc att gc - 3' (配列番号 57)

および

5' - catt tct ctat ggg cg ttg ct ctg - 3' (配列番号 58)

を設計した。このプライマー対を用いて、MS-FR コシヒカリ (R f - 1 座の  
遺伝子型は R f - 1 R f - 1) およびコシヒカリのトータル DNA をテンプレ  
ートに、定法に従い PCR を行った。得られた約 1300bp の増幅産物を、ア  
ガロースゲルでの電気泳動後、Q I A E X I I (Q I A G E N 社) を用いて精製  
した。精製した DNA の塩基配列を、DNA シーケンサー 377 (A B I 社) に  
より解析した結果、数箇所において多型を見出すことができた。

そのひとつは、次のプライマー対:

6]

M s e I F :

aggtatggcaccttcaacac-3' (配列番号59)

M s e I R :

tacgaagttcaaattgtatgg-3' (配列番号60)

立周辺のPCR増幅を行い、増幅産物をM s e I 処理後、アガロ  
スゲル中での移動することにより、可視化することができる。すなわち、MS  
I (R f -1 R f -1) DNAからの増幅産物はM s e I の認  
識配列をもち、M s e I 処理により切断されるのに対し、コシヒカ  
リ増幅産物はM s e I の認識配列をもたず、M s e I 処理により切  
断されない。M s e I 処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移  
動速度が異なることから、アガロースゲル中の移動速度を比較すること  
により、増幅産物の同定を行うことができる。

一の開発には、dCAPS法を適用した。

アーカーB19839 Mwo Iの開発

1-オン (アクセッション番号AC068923) の塩基配列に  
対して、

gggcatccctttcg-3' (配列番号61)

tcgacagacacgac-3' (配列番号62)

ライマー対を用いて、MS-FRコシヒカリ (R f -1 R  
f -1) のトータルDNAをテンプレートに、定法に従いPC  
Rにより約1200bpの増幅産物を、アガロースゲルでの電気泳  
動 (Q I A G E N社) を用いて精製した。精製したDNAの  
濃度を測定し、シーケンサー377 (A B I社) により解析した結果、数個

所において多型を見出すことができた。

そのひとつは、次のプライマー対：

【0229】

【化18】

B19839 Mw o I F：

5' -tcctatggctgttttagaaactgcaca- 3' (配列番号63)

および

B19839 Mw o I R：

5' -caagttcaaacataactggcgttg- 3' (配列番号64)

を用いて当該部位周辺のPCR増幅を行い、増幅産物をMw o I処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、MS-FRコシヒカリ (Rf-1 Rf-1) DNAからの増幅産物はMw o Iの認識配列 (GCNNNNNNNGC) をもたず、Mw o I処理により切断されないのに対し、コシヒカリDNAからの増幅産物はMw o Iの認識配列をもち、Mw o I処理により切断されるため、Mw o I処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

【0230】

なお、本マーカーの開発には、dCAPS法を適用した。

(12) PCRマーカーB2387 Bfa I の開発

既述のBACクローン (アクセッション番号AC068923) の塩基配列に対して、次のプライマー対：

【0231】

【化19】

5' -cactgtcctgtaagtgtgctgtgc- 3' (配列番号65)

および

5' -caagcgtgtgataaaaatgtgacgc- 3' (配列番号66)

を設計した。このプライマー対を用いて、MS-FRコシヒカリ (Rf-1 Rf-1) およびコシヒカリのトータルDNAをテンプレートに、定法に従いPCRを行った。得られた約1300bpの増幅産物を、アガロースゲルでの電気泳



動後、Q I A E X I I (Q I A G E N 社) を用いて精製した。精製したDNAの塩基配列を、DNAシーケンサー377 (A B I 社) により解析した結果、数個所において多型を見出すことができた。

そのひとつは、次のプライマー対：

【0232】

【化20】

B 2 3 8 7   B f a I   F :

5' - tgcctactgccattactatgtgac - 3'      (配列番号67)

および

B 2 3 8 7   B f a I   R :

5' - acatactaccgtaaattggtctctg - 3'      (配列番号68)

を用いて当該部位周辺のPCR増幅を行い、増幅産物をB f a I 処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、MS-FRコシヒカリ (R f - 1   R f - 1) DNAからの増幅産物はB f a I の認識配列 (C T A G) をもたず、B f a I 処理により切断されないのに対し、コシヒカリDNAからの増幅産物はB f a I の認識配列をもち、B f a I 処理により切断されるため、B f a I 処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

【0233】

(13) 分離分析

実施例1で得られた、R f - 1 座とS 1 2 5 6 4   T s p 5 0 9 I 座との間での組換え個体2個体 (R S 1 およびR S 2) およびR f - 1 座とC 1 3 6 1   M w o I 座との間での組換え個体8個体 (R C 1 からR C 8) について、上記(1)ないし(12)で開発した12個のDNAマーカー座の遺伝子型を調査した。結果を、各個体のS 1 2 5 6 4   T s p 5 0 9 I 座およびC 1 3 6 1   M w o I 座の遺伝子型とともに表4に示した。

【0234】

【表 4】

表 4 Rf-1 座極近傍組換え個体のマーカー座遺伝子型

Locus	RS1	RS2	RC1	RC2	RC3	RC4	RC5	RC6	RC7	RC8
S12564 Tsp5091	J	J	H	H	H	H	H	H	H	H
P4497 MboI	J	J	H	H	H	H	H	H	H	H
P9493 BslI	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
P23945 MboI	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
P41030 TaqI	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
P45177 BstUI	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
B60304 MspI	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
B59066 BsaJI	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
B56691 XbaI	H	H	H	H	H	H	H	J	H	H
B53627 BstZ171	H	H	H	H	H	H	H	J	H	H
B40936 MseI	H	H	H	H	H	H	H	J	H	H
B19839 MwoI	H	H	H	H	H	J	H	J	H	H
B2387 BfaI	H	H	H	H	H	J	H	J	H	J
C1361 MwoI	H	H	J	J	J	J	J	J	J	J

J コシヒカリ型ホモ  
H コシヒカリ型/MS-FRコシヒカリ型ヘテロ

## 【0235】

表 4 は、いずれの個体も P 9 4 9 3 B s l I ないし 5 9 0 6 6 B s a J I の間については、インディカ型品種由来の R f - 1 染色体領域を有することを示す。この結果から、図 3 で示したような染色体構成をもつ組換え型花粉において、花粉の受精能力があること、すなわち、R f - 1 遺伝子が機能していることが示された。これは、これらの組換え型花粉が共有するインディカ型領域、すなわち、最大限に見積もっても P 4 4 9 7 M b o I 座から B 5 6 6 9 1 X b a I 座までの領域（約 6 5 k b）に、R f - 1 遺伝子の機能の有無を決定する配列が含まれることを意味する。

## 【0236】

ただし、R f - 1 遺伝子の一部の遺伝子型がインディカ型であることが、R f - 1 遺伝子の遺伝子機能発現に重要であり、残りの部分はジャポニカ型でもインディカ型でも遺伝子機能に大きな差異を生じない可能性がある。よって、上記共有インディカ型領域（配列番号 27 の塩基 1 2 3 9 ないし 6 6 2 6 7）が R f - 1 遺伝子全体を完全に包含するとは、断定できない。しかしながら、以下の理由

- 1) 遺伝子の大きさは通常数 k b であり 1 0 k b を超えることは稀である；
- 2) 本発明で明らかにした I R 2 4 のゲノム塩基配列（配列番号 27）は、上記共有インディカ型領域を完全に包含する；
- 3) 配列番号 27 の 5' 末端は、上記共有インディカ型領域の 5' 末端から

1238bp上流に位置し、別の遺伝子(S12564)の一部である；および

4) 配列番号27の3'末端は、上記共有インディカ型領域の3'末端から10096bp下流に位置する

により、少なくとも配列番号27はRf-1遺伝子全体を完全に包含すると考えられる。

#### 【0237】

#### 実施例4 XSE1由来の9.7kb断片に関する相補性試験

(材料および方法)

λファージクローンXSE1(図1および5)をNotIで完全消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された9.7kbの断片(配列番号27の塩基1-9657を含む)を、QIAEXII(QIAGEN社)を用いて精製した。

#### 【0238】

一方、pSB11(Komariら、上述)を基に、ハイグロマイシン耐性遺伝子カセットを持つ中間ベクターpSB200を作成した。具体的には、まず、ユビキチンプロモーターとユビキチンイントロン(Pubi-ubiI)に、ノパリン合成酵素のターミネーター(Tnos)を接続した。これより得られたPubi-ubiI-Tnos接続体のubiI-Tnos間に、ハイグロマイシン体制遺伝子(HYG(R))を挿入することにより、Pubi-ubiI-HYG(R)-Tnosからなる接続体を得た。この接続体を、pSB11のHindIII/EcoRI断片に接続することにより、pKY205を得た。このpKY205のPubi上流に存在するHindIII部位にNotI、NspV、EcoRV、KpnI、SacI、EcoRIの制限酵素部位を追加するためのリンカー部位を挿入することにより、ハイグロマイシン耐性遺伝子カセットを有するpSB200を得た。

#### 【0239】

上記プラスミドベクターpSB200をNotIで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、CIAP(TAKARA社)により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動

にかけた後、Q I A E X I I (Q I A G E N社) を用いてゲルからベクター断片を精製した。

#### 【0240】

上記により準備した、X S E 1由来の9.7kb断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA L i g a t i o n K i t V e r. 1 (TAKARA社) を用いてライゲーション反応を行った。反応後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAを純水 (M i l l i p o r e社製装置により作成) に溶解後、大腸菌DH5αと混合し、エレクトロポレーションに供試した。エレクトロポレーション後の溶液を、LB培地で振盪培養 (37(C、1時間) した後、スペクチノマイシンを含むLBプレートに広げ、加温 (37(C、16時間) した。生じたコロニーのなかの24個についてプラスミドを単離した。その制限酵素断片長パターンおよび境界部塩基配列を調査することにより、組換えプラスミドにより形質転換された所望の大腸菌を選抜した。

#### 【0241】

上記により選抜した大腸菌を、A g r o b a c t e r i u m t u m e f a c i e n s 菌株LBA4404/pSB1 (K o m a r i e t a l, 1996) およびヘルパー大腸菌HB101/pRK2013 (D i t t a e t a l, 1980) とともに供試して、D i t t a e t a l (1980) の方法に従い、三菌系交雑 (t r i p a r e n t i a l m a t i n g) を行った。スペクチノマイシンを含むABプレートに生じたコロニーのなかの6個について、プラスミドを単離し、制限酵素断片長パターンを調査することにより、所望のアグロバクテリウムを選抜した。

#### 【0242】

上記により選抜したアグロバクテリウムを用いて、H i e i e t a l (1994) の方法に準拠し、MSコシヒカリ (B T細胞質を持ち、核遺伝子はコシヒカリとほぼ同一) の形質転換を行った。形質転換に必要なMSコシヒカリの未熟種子は、MSコシヒカリにコシヒカリの花粉をかけることにより作成した。

#### 【0243】

形質転換植物は、馴化後、長日条件の温室に移した。移植適期まで育成した後

、48個体の植物を、1/5000アールのワグネルポットに移植し（4個体／ポット）、移植3～4週間後に短日条件の温室に移した。出穂約1か月後に、種子稔性を立毛調査した。

【0244】

（結果および考察）

形質転換植物48個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した9.7kb断片は、少なくとも完全長のRf-1遺伝子を包含していないと考えられた。

【0245】

#### 実施例5 XSE7由来の14.7kb断片に関する相補性試験

（材料および方法）

λファージクローンXSE7（図1および5）をEcoRIで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、DNA Blunting Kit（TAKARA社）により平滑化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけ、分離された14.7kbの断片（配列番号27の塩基2618-17261を含む）を、QIAEXII（QIAGEN社）を用いて精製した。

【0246】

一方、プラスミドベクターpSB200をSacIで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、CIAP（TAKARA社）により脱リン酸化し、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、DNA Blunting Kit（TAKARA社）により平滑化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、QIAEXII（QIAGEN社）を用いてゲルからベクター断片を精製した。

【0247】

上記により準備した、XSE7由来の14.7kb断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA Ligation Kit Ver. 1（TAKARA社）を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例4に記載の方法

に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

【0248】

(結果および考察)

形質転換植物48個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した14.7kb断片は、少なくとも完全長のRf-1遺伝子を包含していないと考えられた。

【0249】

実施例6 XSF4由来の21.3kb断片に関する相補性試験

(材料および方法)

λファージクローンXSF4(図1および5)をNotIで部分消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された21.3kbの断片(配列番号27の塩基12478-33750を含む)を、QIAEXII(QIAGEN社)を用いて精製した。

【0250】

一方、プラスミドベクターpSB200をNotIで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、CIAP(TAKARA社)により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、QIAEXII(QIAGEN社)を用いてゲルからベクター断片を精製した。

【0251】

上記により準備した、XSF4由来の21.3kbの断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA Ligation Kit Ver. 1(TAKARA社)を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例4に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

【0252】

(結果および考察)

形質転換植物48個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した21.3kb断片は、少なくとも完全長のRf-1遺伝子を包含していないと考えられた。

## 【0253】

実施例7 XSF20由来の13.2kb断片に関する相補性試験

## (材料および方法)

λファージクローンXSF20(図1及び5)をSalIで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、DNA Blunting Kit(TAKARA社)により平滑化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけ、分離された13.2kbの断片(配列番号2の塩基26809-40055を含む)を、QIAEXII(QIAGEN社)を用いて精製した。

## 【0254】

一方、プラスミドベクターpSB200をEcoRVで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、CIAP(TAKARA社)により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、QIAEXII(QIAGEN社)を用いてゲルからベクター断片を精製した。

## 【0255】

上記により準備した、XSF20由来の13.2kbの断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA Ligation Kit Ver. 1(TAKARA社)を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例4に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

## 【0256】

## (結果および考察)

形質転換植物44個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した13.2kb断片は、少なくとも完全長のRf-1遺伝子を包含していないと考えられた。

## 【0257】

実施例8 XSF18由来の16.2kb断片に関する相補性試験

## (材料および方法)

λファージクローンXSF18はXSF20と5'末端及び3'末端(各々、

配列番号27の塩基20328及び41921)と同一だが、途中の塩基33947-38591を欠いている。よって、配列番号27の塩基20328-33946及び38592-41921を含む。これは、最初にクローンXSF18が単離されたが、単離後の増殖の過程で上記欠失を生じたことが判明したため、再度増殖をやり直すことにより、完全型のクローンを単離し、XSF20と命名したことに因る。

#### 【0258】

λファージクローンXSF18(図5)をNot Iで完全消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された16.2 kbの断片(配列番号27の塩基21065-33946及び38592-41921を含む)を、QIAEXII(QIAGEN社)を用いて精製した。

#### 【0259】

一方、プラスミドベクターpSB200をNot Iで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、CIAP(TAKARA社)により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、QIAEXII(QIAGEN社)を用いてゲルからベクター断片を精製した。

#### 【0260】

上記により準備した、XSF18由来の16.2 kbの断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA Ligation Kit Ver. 1(TAKARA社)を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例4に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

#### 【0261】

(結果および考察)

形質転換植物48個体は、いずれも不稔であった(図6)。このことから、導入した16.2 kb断片は、少なくとも完全長のRf-1遺伝子を包含していないと考えられた。

#### 【0262】

実施例9 XSG22由来の12.6 kb断片に関する相補性試験



## (材料および方法)

$\lambda$ ファージクローンXSG22 (図1および5) をNot Iで部分消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された12.6 kbの断片 (配列番号27の塩基31684-44109を含む) を、QIAEXII (QIAGEN社) を用いて精製した。

## 【0263】

一方、プラスミドベクターpSB20.0をNot Iで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、CIAP (TAKARA社) により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、QIAEXII (QIAGEN社) を用いてゲルからベクター断片を精製した。

## 【0264】

上記により準備した、XSG22由来の12.6 kbの断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA Ligation Kit Ver. 1 (TAKARA社) を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例4に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

## 【0265】

## (結果および考察)

形質転換植物48個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した12.6 kb断片は、少なくとも完全長のRf-1遺伝子を包含していないと考えられた。

## 【0266】

実施例10 XSG16由来の15.7 kb断片に関する相補性試験

## (1)

## (材料および方法)

$\lambda$ ファージクローンXSG16 (図1および5) をNot Iで部分消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された15.7 kbの断片 (配列番号27の塩基38538-54123を含む) を、QIAEXII (QIAGEN社) を用いて精製した。

## 【0267】

一方、プラスミドベクター pSB200 を Not I で完全消化後、エタノール沈殿により DNA を回収した。回収した DNA を TE 溶液に溶解後、CIAP (TAKARA 社) により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、QIAEXII (QIAGEN 社) を用いてゲルからベクター断片を精製した。

## 【0268】

上記により準備した、XSG16 由来の 15.7 kb 断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA Ligation Kit Ver. 1 (TAKARA 社) を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例 4 に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

## 【0269】

## (結果および考察)

形質転換植物 47 個体のうち、少なくとも 37 個体は、明らかに稔性を回復していた (図 6)。このことから、導入した 15.7 kb 断片のなかのイネ (IR24) に由来する部分である 15586 塩基 (配列番号 27 の塩基 38538-54123) が、完全長の Rf-1 遺伝子を包含していると考えられた。

## 【0270】

## (2) XSG16 内部の 11.4 kb 断片に関する相補性試験

## (材料および方法)

λファージクローン XSG16 を AlwNI および BsiWI で完全消化後、エタノール沈殿により DNA を回収した。回収した DNA を TE 溶液に溶解後、DNA Blunting Kit (TAKARA 社) により平滑化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけ、分離された 11.4 kb の断片を、QIAEXII (QIAGEN 社) を用いて精製した。

## 【0271】

プラスミドベクター pSB11 (Komari et al. Plant Journal, 1996) を SmaI で完全消化後、エタノール沈殿により DNA を回収した。回収した DNA を TE 溶液に溶解後、CIAP (TAKARA

社)により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、QIAEXII (QIAGEN社)を用いてゲルからベクター断片を精製した。

#### 【0272】

上記により準備したふたつの断片を供試して、DNA Ligation Kit Ver. 1 (TAKARA社)を用いてライゲーション反応を行った。反応後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAを純水 (Millipore社製装置により作成) に溶解後、大腸菌DH5 $\alpha$ と混合し、エレクトロポレーションに供試した。エレクトロポレーション後の溶液を、LB培地で振とう培養 (37(C、1時間)した後、スペクチノマイシンを含むLBプレートに広げ、加温 (37(C、16時間)した。生じたコロニーのなかの14個について、プラスミドを単離し、制限酵素断片長パターンおよび境界部塩基配列を調査することにより、所望の大腸菌を選抜した。

#### 【0273】

上記により選抜した大腸菌を、Agrobacterium tumefaciens 菌株LBA4404/pSB4U (高倉ら、特願2001-269982 (WO02/019803 A1)) およびヘルパー大腸菌HB101/pRK2013 (Ditta et al, 1980) とともに供試して、Ditta et al (1980) の方法に従い、三菌系交雑 (triparential mating) を行った。スペクチノマイシンを含むABプレートに生じたコロニーのなかの12個について、プラスミドを単離し、制限酵素断片長パターンを調査することにより、所望のアグロバクテリウムを選抜した。

#### 【0274】

上記により選抜したアグロバクテリウムを用いて、Hiei et al (1994) の方法に準拠し、MSコシヒカリ (BT細胞質を持ち、核遺伝子はコシヒカリとほぼ同一) の形質転換を行った。形質転換に必要なMSコシヒカリの未熟種子は、MSコシヒカリにコシヒカリの花粉をかけることにより作成した。

#### 【0275】

形質転換植物は、馴化後、長日条件の温室に移した。移植適期まで育成した後

、120個体の植物を、1/5000アールのワグネルポットに移植し（4個体／ポット）、移植約1か月後に短日条件の温室に移した。出穂約1か月後に、各個体から標準的な穂を1穂サンプリングし、種子稔性（総もみ数に対する稔実もみの割合）を調査した。

#### 【0276】

##### （結果および考察）

形質転換植物120個体のうち、59個体が10%以上の種子稔性を示し、そのうち19個体は70%以上の種子稔性を示した。このことから、導入した11.4 kb断片（配列番号27の42357番目の塩基から53743番目の塩基まで）が、稔性回復の機能を発現するうえで必須のRf-1遺伝子領域を包含していると考えられた。

#### 【0277】

##### （3） XSG16内部の6.8 kb断片に関する相補性試験

##### （材料および方法）

λファージクローンXSG16をHpaIおよびAlwNIで完全消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された6.8 kbの断片を、QIAEX II（QIAGEN社）を用いて精製した。

プラスミドベクターpSB11の調整を含め、以後の過程は上記（2）に記載の方法に準拠した。

#### 【0278】

##### （結果および考察）

形質転換植物120個体のうち、67個体が10%以上の種子稔性を示し、そのうち26個体は70%以上の種子稔性を示した。このことから、導入した6.8 kb断片（配列番号27の42132番目の塩基から48883番目の塩基まで）が、稔性回復の機能を発現するうえで必須のRf-1遺伝子領域を包含していると考えられた。

#### 【0279】

##### 実施例11 XSG8由来の16.9 kb断片に関する相補性試験

##### （材料および方法）

λファージクローンXSG8（図1および5）をNot Iで完全消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された16.9 kbの断片（配列番号27の塩基46558-63364を含む）を、QIAEXII（QIAGEN社）を用いて精製した。

#### 【0280】

一方、プラスミドベクターpSB200をNot Iで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、CIAP（TAKARA社）により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、QIAEXII（QIAGEN社）を用いてゲルからベクター断片を精製した。

#### 【0281】

上記により準備した、XSG8由来の16.9 kb断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA Ligation Kit Ver. 1（TAKARA社）を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例4に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

#### 【0282】

（結果および考察）

形質転換植物48個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した16.9 kb断片は、少なくとも完全長のRf-1遺伝子を包含していないと考えられた。

#### 【0283】

#### 実施例12 XSH18由来の20.0 kb断片に関する相補性試験

（材料および方法）

λファージクローンXSH18（図1および5）をNot Iで完全消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された20.0 kbの断片（配列番号27の塩基56409-76363を含む）を、QIAEXII（QIAGEN社）を用いて精製した。

#### 【0284】

一方、プラスミドベクターpSB200をNot Iで完全消化後、エタノール

沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、CIAP（TAKARA社）により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、QIAEXII（QIAGEN社）を用いてゲルからベクター断片を精製した。

#### 【0285】

上記により準備した、XSH18由来の20.0kbの断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA Ligation Kit Ver. 1（TAKARA社）を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例4に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

#### 【0286】

（結果および考察）

形質転換植物44個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した20.0kb断片は、少なくとも完全長のRf-1遺伝子を包含していないと考えられた。

#### 【0287】

実施例13 XSG8およびXSH18の重複部由来の19.7kb断片に関する相補性試験

（材料および方法）

実施例11におけるライゲーションによって得られた所望の大腸菌から単離したプラスミド（XSG8SB200F）を、SalIおよびStuIで完全消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された12.8kbの断片（配列番号27の塩基50430-63197を含む）を、QIAEXII（QIAGEN社）を用いて精製した。

#### 【0288】

一方、実施例12におけるライゲーションによって得られた所望の大腸菌から単離したプラスミド（XSH18SB200R）を、SalI、StuIおよびXhoIで完全消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された6.9kb断片（配列番号27の塩基63194-70116を含む）を、QIAEXII（QIAGEN社）を用いて精製した。

【0289】

さらに、プラスミドベクター pSB200 を EcoRV で完全消化後、エタノール沈殿により DNA を回収した。回収した DNA を TE 溶液に溶解後、CIAP (TAKARA 社) により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、QIAEXII (QIAGEN 社) を用いてゲルからベクター断片を精製した。

【0290】

上記により準備した、XSG8 由来の 12.8 kb の断片、XSH18 由来の 6.9 kb の断片、及びベクター断片の三個の断片を供試して、DNA Ligation Kit Ver. 1 (TAKARA 社) を用いてライゲーション反応を行った。ライゲーション産物は、XSG8 および XSH18 の重複部由来の 19.7 kb 断片 (配列番号 27 の 50430-70116 を含む) (図 5 の XSX1) を含む。以後、実施例 4 に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

【0291】

(結果および考察)

形質転換植物 40 個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した 19.7 kb 断片は、少なくとも完全長の Rf-1 遺伝子を包含していないと考えられた。

【0292】

#### 実施例 14 cDNA ライブラリーの作成

まず、戻し交雑によりコシヒカリに Rf-1 を導入した系統 IL216 (遺伝子型は Rf-1/Rf-1) を作成した。前記 IL216 を慣行法で温室栽培し、葉耳間長が -5 ~ 5 cm の生育段階で幼穂をサンプリングした。SDS-フェノール法 (Watanabe, A. and Price, C. A. (1982) Translation of mRNAs for subunits of chloroplast coupling factor 1 in spinach. Proceedings of the National Academy of Sciences of the U. S. A

., 79, 6304-6308) でトータルRNAを抽出した後、QuickPrep mRNA Purification Kit (Amersham Pharmacia Biotech) によりpoly (A)<sup>+</sup> RNA を精製した。

## 【0293】

次いで、精製したpoly (A)<sup>+</sup> RNA を供試して、ZAP-cDNA Synthesis Kit (Stratagene) によりcDNAライブラリーを作成した。作成したライブラリー (1ml) のタイターは16000000 pfu/mlと算出され、十分な大きさであると判断された。

## 【0294】

実施例15 cDNAライブラリーのスクリーニング

## (1) スクリーニング用プライマーの作成

以下の2種類のプライマー、

## 【0295】

## 【化21】

センスプライマー

5' -tctcattctctccacgccctgctc-3' (配列番号76)

アンチセンスプライマー

5' -acggcggagcaattcgtcgaacac-3' (配列番号77)

を用いて、IR24のゲノミッククローンXSG16をテンプレートにPCRを行った。配列番号76及び77は各々、配列番号27の塩基43733-43756及び44038-44015に相当する。

## 【0296】

電気泳動後、約300bpの増幅産物をQIAEX II Gel Extraction Kit (QIAGEN) によりアガロースゲルから回収した。回収した断片を、Rediprime II DNA labelling system (Amersham Pharmacia Biotech) を用いて<sup>32</sup>P-ラベルした (以下、「プローブP」と呼称する)。

## 【0297】



また、以下の2種類のプライマー、

【0298】

【化22】

センスプライマー

5' - agtgtgtggcatggtgcatttccg - 3' (配列番号78)

アンチセンスプライマー

5' - ctctacaggatacacggtgtaagg - 3' (配列番号79)

を用いて、IR24のゲノミッククローンXSG16をテンプレートにPCRを行った。配列番号78及び79は各々、配列番号27の塩基48306-48329及び50226-50203に相当する。電気泳動後、約1900bpの増幅産物を上述の方法によりアガロースゲルから回収した。回収した断片を、上述の方法で<sup>32</sup>P-ラベルした（以下、「プローブQ」と呼称する）。

【0299】

(2) cDNAライブラリーのスクリーニング

実施例14で作成したcDNAライブラリーを供試して、約15000プラークが出現した寒天培地を70枚作成した。各寒天培地について2回ずつプラークリフトを行い、Hybond-N<sup>+</sup> (Amersham Pharmacia Biotech) に転写した。一方のメンブレンをプローブPとのハイブリダイゼーションに、もう一方のメンブレンをプローブQとのハイブリダイゼーションに用いた。一連の作業は、製造者の手引書に従って行った。

【0300】

ハイブリダイゼーションは、250mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>、1mM EDTAおよび7% SDSを含むハイブリダイゼーション溶液にプローブを添加し、65℃で16時間行った。洗浄は、1×SSCおよび0.1% SDSを含む溶液により65℃、15分で2回行った後、0.1×SSCおよび0.1% SDSを含む溶液により65℃、15分で2回行った。洗浄後のメンブレンをFUJIBAS1000 (Fuji Photo Films) で解析した。

【0301】

その結果、プローブPおよびプローブQのどちらでも陽性を示すプラークが8

個見出された。そこで、それらブラークを単離し、製造者 (Stratagene) の手引書に従い pBluescript にサブクローニングした後、末端塩基配列を調査した。8個のクローンのうち、6個のクローンの末端塩基配列が XSG16 の配列と一致した。それら6クローンの全塩基配列を決定し、結果を、配列表の配列番号69-74に示した。

## 【0302】

配列番号69-74のいずれの配列も、配列番号75のアミノ酸配列1-791を持つタンパク質をコードすると推定される。具体的には、各々配列番号69の塩基215-2587、配列番号70の塩基213-2585、配列番号71の塩基218-2590、配列番号72の塩基208-2580、配列番号73の塩基149-2521及び配列番号74の塩基225-2597が、いずれも配列番号75のアミノ酸配列1-791をコードする。なお上記塩基配列は、配列番号27の塩基43907-46279に対応する。

## 【0303】

配列番号75のアミノ酸配列を、トウモロコシの稔性回復遺伝子 (Rf2) の推定アミノ酸配列 (Cui et al., 1996) と比較したところ、N末端の7アミノ酸残基 (Met-Ala-Arg-Arg-Ala-Ala-Ser) が一致した。これら7アミノ酸残基はミトコンドリアへの標的化シグナルの一部と考えられている (Liu et al., 2001)。これらのことから、今回単離した cDNA は Rf-1 遺伝子のコーディング領域を完全に包含すると考えられる。イネ Rf-1 とトウモロコシ Rf2 とのアミノ酸レベルでの相同性は、前述の領域を除いては見られない。遺伝子産物がミトコンドリアに移行してからの稔性回復機構は、両者で異なるものと推測される。

## 【0304】

また、今回単離した cDNA の配列を IR24 のゲノム配列 (配列番号27) と比較することにより、エキソンとイントロンの構造が明らかになった (図7)。その結果、植物体内において、スプライシング様式およびポリA付加位置を異にする種々の転写産物が混在していることが示された。

## 【0305】

【配列表】

<110> JAPAN TOBACCO INC.

Syngenta Limited

<120> The rice restorer gene to the rice BT type cytoplasmic male sterility.

<130> 021379

<160> 79

<210> 1

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of R1877 EcoRI marker sequence.

<400> 1

cattcctgct tccatggaaa cgtc 24

<210> 2

<211> 33

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of R1877 EcoRI marker sequence.

<400> 2

ctctttctgt atacttgagc ttgacatct gac 33

<210> 3

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of G4003 HindIII marker sequence.

<400> 3

gatcgacgag tacctgaacg 20

<210> 4

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of G4003 HindIII marker sequence.

<400> 4

aatagttgga ttgtcctcaa aggg 24

<210> 5

<211> 27

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of C1361 MwoI marker sequence.

<400> 5

aaagcaaccg acttcagtgg catcacc 27

<210> 6

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of C1361 MwoI marker sequence.

<400> 6

ctggacttca tttccctgca gaggc 24

<210> 7

<211> 27

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of G2155 MwoI marker sequence.

<400> 7

gaccaccaat taactgatta agctggc 27

<210> 8

<211> 27

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of G2155 MwoI marker sequence.

<400> 8

tttctggctc caataatcag ctgtagc 27

<210> 9

<211> 27

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of G291 MspI marker sequence.<400> 9

ctgctgcagc aagctgcacc gaaccgg 27

<210> 10

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of G291 MspI marker sequence.<400> 10

acattttttc ttccgaaact tccg 24

<210> 11

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of R2303 BslI marker sequence.

<400> 11

atggaaagat acactagaat gagc 24

<210> 12

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of R2303 BslI marker sequence.

<400> 12

atcttatata gtggcaggaa agcc 24

<210> 13

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of S10019 BstUI marker sequence.

<400> 13

aacaatctta tcctgcacag actg 24

<210> 14

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of S10019 BstUI marker sequence.

<400> 14

gtcacataga agcagatggg ttcc 24

<210> 15

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of S10602 KpnI marker sequence.

<400> 15

agctgttgag agttctatgc cacc 24

<210> 16

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of S10602 KpnI marker sequence.

<400> 16

tagccatgca acaagatgtc atac 24

<210> 17

<211> 26

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of S12564 Tsp509I marker



sequence.

<400> 17

ctagttagac cgaataactg aggttc 26

<210> 18

<211> 27

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of S12564 Tsp509I marker sequence.

<400> 18

tttgtgggtt tgtggcattg agaaaat 27

<210> 19

<211> 2240

<212> DNA

<213> Oryza sativa L.

<223> PCR marker G4003 HindIII

<400> 19

gcggccgctc cgggaagtcg agcgagtaga cgcccctgac gccgtacgcg tcggcgagcc 60  
gcagcggcgt ctctggcgggt gtgaaggaca gcccgttcag cgtcgcgcgg cgccgcccgt 120  
tgatcgtcac cggcgccgtg ctccgcagca ggtacgcctg cgtcacgttg atcgacgagt 180  
acctgaacga tccctgtggg ttccggcctcg ccgctccggc actcaggttc cacctgcccc 240  
atgcaaaaaa ccaaaaccca aaagcttaat gcgaataata catcattcca cgtatttaaa 300  
aaaataattt ataggtaaaa tttttataat gtatttttagc gacgtaaatg tcaatgctga 360  
gaaataaacg ataatacttt aaatgaagtt ctaaaattta aattttggca tcggttgatg 420  
ttggataaag aaaacgatgg aggctagtaa tttttcttct tttttaagta tctagattgt 480  
catatattga atttttcagt ttttcatccc ttgaggaca atccaactat tattttcctt 540

ttcttatgta aaaggttgaa caacatattc aaacataaaa aaataaaaatt aaatgaaata 600  
 aatttacaat tcataaaaatt tacagaattt atgttaagaa aatattcaaa cttagataat 660  
 aataaagcaa caaaatcgta ctaaaaagaa gtataattgt acattgtata ctactactcc 720  
 tacaatttta gacttagaat ttttaatttc ctgaaatcta gtaatgccat ttttttcttt 780  
 ctagttgaac cagacagtaa gttaactcg aaacttataa gctaagagc gaagtcgggc 840  
 aattcactcg tacctgacgg agcgagcttg gttcatggag aaggacttgt cgaactggtc 900  
 ctggggaggg tcggggagcg ggccggaggc ccgcccccg gagttggagt agcggaggac 960  
 ggcgacgccg gcgacgcggc gccacacggt gtcgttcacc atgcgcgcgc tggcgacgac 1020  
 gtagtagtcg gagctcgcgt tctggtcggt ggtgacgagg aaggagtagg actggccgac 1080  
 gtggacgtcc aggttggtgt agttctgctg cgtcgtgtag gagccctccg tctccaccag 1140  
 caccatgttg tgcccctgga tcctgaagtt gaggctcgtc gacgtcccca cgttgtgcac 1200  
 tcggatcctg tacgtcttgc ctgtgtcccc acaccgacgt cgccgacaca cgcgcaaaag 1260  
 ataatagact cattgtaagt aggtagtaac cttctccgtt tcatattata aatcgtttga 1320  
 ttatatTTTT gttagttaaa cttctttaag ttttttttct ataaacttaa ttaaacttaa 1380  
 agaattttta taaaaaaaat caaacgactt ataataaaa atggatggag tagttgcac 1440  
 aatttgtgga tgaagcaaac aagattatat ctttttcatg agggtgaaag tattcagtga 1500  
 acaattcgtc agtttcaagt ttcataaat cggacagggt ctctgaaagt ctgtatTTTT 1560  
 ggtactgttg gattgactac tctggcttct gttgtcacat cttttgtatc ctagtttcgg 1620  
 taaaaaaaat tttggcattt ttactcctat cgttgatctg ttaactgaa accattgcat 1680  
 gatatactac tagcagacaa aactggtgaa aattcacgag aatgaacttt ttgtcagtta 1740  
 agcattagcg gacagcttca gtaagcagag caggctgcct taaggcttaa agcactatct 1800  
 tccacaacac tttgtcctac aatcaaattc caaatttact atcacaaaaa gcgaaggaaac 1860  
 taactaaacc ttactcctac tagtactact gctatgacta tgaaacaaga ttccaatcca 1920  
 aagaaaacac agtgctcgat cagcatgata aaagcaacga aacctgctca tccagctgcc 1980  
 aaaatgccac cccactgact ctacgtacgt actacgtatt gacgctgtaa aaaactagcc 2040  
 gtagtacaga gaagaggacc caaagtttcg tcaaaaattt tattttaccc ggatccacat 2100  
 tgatggtctc gtactcgatg ccggccggga caaggctgtc gttgtacctg tacgggccct 2160  
 tgccgttaat cagcagccg tccggcatcc cgaggtcctt gccactgtcc agcatcttcc 2220  
 tcagatcctg caacgaattc 2240

&lt;210&gt; 20

&lt;211&gt; 2601

&lt;212&gt; DNA

<213> *Oryza sativa* L.

&lt;223&gt; PCR marker C1361 MwoI

&lt;400&gt; 20

```

tcttgctgag atccaagttg cggtaacttt gcccttttct tttttcttc tcttctgaat 60
tttttcatgg tttttgggag agattttcgt aacttgattt cagttctagg aaaaggccac 120
cttgttcaaa cagggtcttc ttgaaaggga tcaatttgct aggagtacat gattctaaaa 180
gcgatttcga aataaaacac agttctcgat ctcatacctg aaaacaaaag gcccatactg 240
tgtaaactgt gattatgctt ctgttaaag ggatatttgt acaaaattga cgccaaccac 300
ctataaacag attgtgagct tttatcttag taaaataaaa tgtgacattc tactcagtgt 360
tcagtgatcc gatgtcgtct cttctgcgta caacttctaa cagccgtttt cggtagtaca 420
aactagcgaa acaccaaaaa cgcagcattt gagttctgga atacgctgaa attgttagaa 480
tcaaccacga aaccaaaatc attgttcaga aacgttgcaa cgagataaaa cacaagaact 540
tgttttaaca aagcatcagg acagtacata tacggttaca acaccagtc tttatacagt 600
tctgctggag ttccatctac tggctgtcat tgtatctcag gacagacagg ttaacatagg 660
tacaacacaa ttacaggcta aaccgaagcg aactacactg tcagcatctc taacagtatc 720
gtcaagcaag cttattttaca gctgctctag taaatttaca acgtccctgg cagaatccct 780
ctcgtttctg gcagcgacga ggcacggctc atggccttag caggacatct caccgctcag 840
ctgcatagaa agcaaccgac ttcagtggaa tcacctcctg ctctgcaaa aaagttgggt 900
cgatcaatca cgcgtttaat ccaaaacaaa atgggtatta attatgctag cctatgaagc 960
tacctcagag ttctctattt gctctgcagg gaaatgaagt ccagtggaac agttctcaag 1020
cacctcaggg ctcttcatcc atgctttgtg tgcttcaatg gctttcagct tatagcgaaa 1080
catctgcgat acggatctaa aattaaggat gtcgacaatt acttaacaca acaataatt 1140
gaagcaggtc cagttaaaga aaagtagcag cgaagaatag cactctgaag tctgaacctc 1200
agataaagaa atggttgggt tttccagttc atctccctca acatggattc cagtaccctg 1260
gcattctggg caaaggatgg atgttatttt cttaggtgca tttttgcct ttcttcctcg 1320

```

attgcttttt cccttgcttg caattttgtc tgctagcatc tcatattggc ataaaatagt 1380  
 ccagtgcaca aggcaagaag tgtgaaacaa atgaaatgcc tgcaaaatta gccgtacaaa 1440  
 gtcattggag gttgcagcag aatactacaa atttttaag aagaaactat acactgtcta 1500  
 tgttttgctt gaaatgaatt caaccacttt gcattatacg gtttggaatc cctggtttgt 1560  
 gagaactgta attccattac aacagtgaag aagttacat aactaatgaa tggaaattag 1620  
 tcaaatgcct aatttttttag gtttgcttta atttatttat ctgtgagaaa tgctaagcat 1680  
 gtcatgcgtt gctatcttca agaaatacta agaaactgca aaggcaaaga atgtttgaaa 1740  
 taacttacc cgcttgagtt tctactgctg caggctagat ttctgtctt gcagttgagc 1800  
 aaggtagcta catccttttc aagaagcatt ggtcgccac aaatatcaca agctttctca 1860  
 gcagcaaggc gcttctgctt acgcaactcc ctctcatag atttggtgga taagaggcca 1920  
 acttgaagat tgtgtgaagt acctgtcggg gaacctgtta tgatagcttg gctattgtca 1980  
 tgggcggagc tgctttgctc attcgactcc tctgaagatg cttcttgatc tgaaaatgac 2040  
 ttctttcttc tctttccacg gtgtccagca tcatcaatca cgaagaaaga tccagcagag 2100  
 ataggaaggt cctgatcatc agaagaccac ttctgcca actcaattgt ataagagaag 2160  
 ttgacaatgg caaagtcaga ttgctcatag gtgtcacact catccaagcc atgggagcca 2220  
 tctgtccta cccaagcaca ccagatcttg ctaatctttt tacttcttt gctagcttcc 2280  
 cataacctgt atgcaatatt tccatatccc aaaagatgca caggcaaate cgaaacaaca 2340  
 tcttttagca atacactagg aataacgaga ggaccgtcag ttccactttg gtttgacagc 2400  
 acatgatctt cagatacaga agcagttcta ccattaccat gcgcatttgc accacggcgt 2460  
 gtgccttttg cgccattgag agagctagaa tcatctctca acctcgaagt cacttcagt 2520  
 tcgttcgtg gaaccagagc cagctctctg gtgttctgag agctcgagtc cagcaagagc 2580  
 gggtccttct cgcgcgagtt g 2601

<210> 21

<211> 1333

<212> DNA

<213> Oryza sativa L.

<223> PCR marker G2155 MwoI

<400> 21

ccctctgctt gatccagtgt acatccatgg gttaggacag attagttact cagttaatta 60  
 agtgtgagac tggaaaaaaa tatctgacgg cagttttata agttgagtga ttgaactagt 120  
 gaaagttcag ttaactgtca acggctgtag atttgggatg gcagactgtt ctgagtcaaa 180  
 atgaagcttt tactgtgcgt ggttaccagg tgcagtaaaa taatttcaga tctaatacgca 240  
 gtaaaaaaat gtagtactat atgttaagac gagattggtc ggtcaaaatc tatctggccc 300  
 ttacatctc ccaaagtta cctcagttgc aggtggtaaa aaaaaatcac tcgtttcacg 360  
 tgatgtcggc agatcatgga ccatgtctca aatgctgaaa ctctgaacaa tcaacaaaaa 420  
 aatccaacca gatgagctgt gcaactgata attgatcatc aactatittg caactcatct 480  
 ttcatgtaga tggaaattca atcccgaaga aataatgaca gcaaaatgct gcgatcctga 540  
 agaaaggatg gcggcaaaat ggcagcgata aaaaaaaat ggttggttac tgaagaatta 600  
 tttgtgcagc agttgagaca gtagcaagat aagagctagc taagctagct aggtagagtt 660  
 ggatggaaga gtagtagtat gagatagagc atggagcgcg acaactcaag tggatgctaa 720  
 agtaaaaggc attctcttct cttgtttgga atcagaaaag aaaagaaaag acttgagctg 780  
 cttggctgga atgtttgggt ggatcatgcg cgctctcctt agcttagctc gccaaagaaat 840  
 cctcgcttca tctctctcaa taattcaaag ccacgagctc tctgctcata tccagtgcga 900  
 cgattcccgt taatgcaaat gcattatata cagttcgaaa tgttacaatt cttgcgtttg 960  
 cagcaagcca gcaagtgggt tgaattgttt aatccctcgt gcatttcaac gaaattctct 1020  
 cacaaattcg cattgacttc tttcttagca caattagtaa gcagtgacaa ataaagaatt 1080  
 tttgaacagg atgtctttcc aaggaagggt agatttttta tgtggatagc aaggatcgcc 1140  
 tttccttagc atgaagagaa tgtgatcaac ttacacctt gcttacgatt atggccttaa 1200  
 tttttgatac cctaaacagg agcacatcac atgcatgtcg acctgagacc accaattaac 1260  
 tgattaagtt ggcatctcag atgcatccgt cagttacatg atcaggtgat cgatggatca 1320  
 actgtaggtt tca 1333

<210> 22

<211> 863

<212> DNA

<213> *Oryza sativa* L.

<223> PCR marker G291 MspI

&lt;400&gt; 22

cgaacaggat caaaagtaga cgacgagggc atttagaagg agaggaattg tatttgttcc 60  
 cggatatttaa tttttaatt tgtggtcgga agtttcggaa gaaaaaatgt gctcatgagt 120  
 gattattggc tctgaacacc aacctctctt ttcgttgatt ccttctgagg tgttgggtgt 180  
 tgggacacga tgctgccgcc gacacgacac cgggttccac aatacactaa tctactcgcg 240  
 acaccttcat tgaactgcat ataattattt agaaagtcca ttaacacatc ttataaaacc 300  
 ttgttgaatc atataatcat tctataaagt ctatttgaac atcttatgaa aaaataagat 360  
 ctgacctagt cgttacactc tcttacattt tccattagcc taactaatc cgtgcaggaa 420  
 acgccccaaa ataatagtac caatagtcca ctaatcccggt gccagaggcc gccaatgatt 480  
 agtgattaac ccaaaaaaca taatcatcat cacacgccgc taatgaccag ctctcgctta 540  
 gctcatccca caggcggccc ccacacgcca ctctgccat gtgggcccac ctttcacacc 600  
 cccaccaaac cagaaaaaaa actcccccaa aaaaaaact tttaatgctt atctcgcggc 660  
 agtataaaag gcgacccac caccacaca caatcacagt cagcgaccca acccaaccg 720  
 agccgaggag tcgagtcgtg tgaaaattac gaaattgcc ttcgactcca ccaccaccac 780  
 ccaccggcga ggcgaggaga ggagaaaaat tgggaggaaa aaaaaaggga aaaagaaaaa 840  
 gggtggagga gatTTTTgcg aag 863

&lt;210&gt; 23

&lt;211&gt; 1510

&lt;212&gt; DNA

<213> *Oryza sativa* L.

&lt;223&gt; PCR marker R2303 BslI

&lt;400&gt; 23

tgccatgaag acctatggaa agaatatctt cttctcactc tgtgaatggt gagtttactc 60  
 tctgtaacat ttagggctag gtcgaaggaa catgaagcat tgctgattca ctccactgtg 120  
 tttttttttt ctgtataggg ggaaagaaaa tcctgctaca tgggcaggcc gcatgggtaa 180  
 cagctggaga acaactggcg acatcgccga caactggggc aggttctact catcctctct 240  
 ttaaccctgt ttacatagtt cttgagtttt tcagtactga tcgtaattgc cctgttattt 300  
 cagtatgaca tctcgtgcag acgaaaatga ccaatgggct gcctatgctg gacctgggtg 360

atggaatggt aagaacttga gatgtatctg ttcctagggt gcttaaccat ttgagagctt 420  
 caaaatgata aacatatgtt tctgctgtgc aatatcagat cctgacatgc ttgaagtggg 480  
 aaatgggtggg atgtctgaag ctgagtaccg gtcacacttc agtatctggg cactagcaaa 540  
 ggtaccatag catgttctat gtactaataa ttttgctgca atgttgaact tctttgcatt 600  
 tcctcactgc aagttttgct tgaattgttc aggctcctct tttgatcgga tgcgatgtgc 660  
 gctcaatgag ccagcagacg aagaacatac tcagcaactc ggaggtgata gctgtcaacc 720  
 aaggcaagcc ttctcagttt cacatgctta gatttagcca tacctcttgg atatttcacc 780  
 atactcataa tgtaactctc tgaacagata gtctagggtg ccaaggaaag aaagtacaat 840  
 ctgacaacgg attggaggta tcccttcaat ggcttccaaa tttgcagttt ctcatgtgcc 900  
 cataagcctt ggcatgatca tgactaactc tgaagctgac aatactttgt gtaaatttgt 960  
 cggtagggtt gggccggggc actcagcaac aacaggaagg ctgtggtgct ctggaacagg 1020  
 cagtcatacc aggcaaccat cactgcacat tggtcgaaca tcgggctcgc tggatcggtc 1080  
 gcggtcactg ctctgtatct atgggcggta aagcctttgc tttcttcaga gctcaaagta 1140  
 gaacatcttc tcttcagaat tcagagtcca taacaaattt ctgtcaattg tgcagcactc 1200  
 ttcgttcgcg gctcaggac agatatcagc atcggtggcg cctcatgact gcaagatgta 1260  
 tgtcttgaca ccaaactagt cagcaaagaa aagcagcaca ggtagtacg tgtccggcga 1320  
 atacagctaa attgatcagg attcaggaag aaggtttgca atttgcaagg attggtagag 1380  
 ctggaaatgg gatgccattt gggtatgtat gtagaaataa gctgtaagcc tgtaagcgta 1440  
 tatgtaatca gccgtcaaat gctggcgagt gtatttctga agtttgcaac gaaagttgca 1500  
 gcaataaaaa 1510

<210> 24

<211> 1016

<212> DNA

<213> *Oryza sativa* L.

<223> PCR marker BstUI

<400> 24

tggggattct tttctttaag caatttaaca ttattgtcct aacaatatac acaatattgg 60  
 tttttctttc agtatcaaataa atttctttta cttttgaaaa cacatttgca atgtgttgga 120

aacacaatta tatcttgcac ttccttttgg aaattttaatc atttgaaaac tgattcgcgt 180  
 ttcatggctg taatcttctc ttgcgaacat cgctctttct ttgatggttc tctgttgaga 240  
 agaagagcaa ccaagtaa at tttcgaaatg tttttttgtt ctttctattc accattgcag 300  
 gttgtcaaag ccatcgagaa ggccataccg attccgagag cgcaacccat tgccttggat 360  
 ggcccagcaa gggaagagct gaaggccatg gaggcgcaga aggtcgagat cgaccgcacc 420  
 gcggcgctcc aggtgcgccg tgagctttgg ctggggctgg catacctcgt cgtccagact 480  
 gccggcttca tgaggctcac attctgggag ctctcatggg atgtcatgga acccatctgc 540  
 ttctatgtga cctccatgta cttcatggcc ggctacacct tcttctccg gaccaagaag 600  
 gagccctcct tcgagggctt cttcgagagc cggttcgcgg cgaagcagaa gcggttgatg 660  
 cacgcccggg atttcgatct ccgccggtat gacgagctcc ggcgagcctg tggcctgccg 720  
 gtggttcgga ctccgacgag cccctgcaga ccgtcgtcgt cgtcgtcgtc gtcttcgacg 780  
 caggagagcc attgccattc ttactgccat tgccaatgat ctttgtgctg ttctgttctg 840  
 ttgtcagaat tttttcatgc ccagtttatg ggggttaagc tagcttctcc attgtaccgt 900  
 tctgatgtgc ggatgatgcg atgcaaagca tagtttgttg aagagatgac aaggcagatt 960  
 ttagcttgaa aacctggagg tgagaaaaaa aaatcctgat gtgtttgtgt gtgtga 1016

<210> 25

<211> 676

<212> DNA

<213> *Oryza sativa* L.

<223> PCR marker S10602 KpnI

<400> 25

accacattca tatgaagaaa ttaacgggtgt ttatcatgagg aatccaacag tcgctgaatt 60  
 ggtggaaact gtggaattct tcttggctga ggtaaccaat catcacttca ccacaatgca 120  
 caagtttgta gcttactact acagtacttc taataagttt tgtctgttga gatattattg 180  
 ctgatttcta tgcatgggtca tctttttgac aggccatcca gtcttatcgt gctgagagtg 240  
 aaactgagct caacctggca gctgggtgact atatagttgt ccggaaggta cggccctatc 300  
 ttcccattgg acatgtttct aaccataaac atatctttgc tggacttttg tgggcaaagt 360  
 tggctacact aaacttgtgt tcattaacct gctcaatcag gtgtcaaaca atggatgggc 420



agaaggtgaa tgcagaggga aagctggctg gttcccttac gactacatcg agaaaaggga 480  
 ccgtgtgctt gcaagtaaag tcgccaggt cttctaggcg ttcaatgagc catacataca 540  
 taaccctggt gttgtacact gtattatgat cgttcgtgat cttcaaagac cctctgatca 600  
 gagaaatcac aaatatcttt ttgttctatt attgtcatta tcactacccc ttttgtcaaa 660  
 accagtgcag cctttt 676

<210> 26

<211> 1059

<212> DNA

<213> *Oryza sativa* L.

<223> PCR marker Tsp509I

<400> 26

gcgagatcat gaacttgatt ttctggttgc catattgggc ttgcttgta acctttaga 60  
 gaaggatagc cttaataggt aagtcctca catgcttcct tccatttgct caattcatat 120  
 cagtgttact gttctggcag ttccttgggg tcaggactca gaaacatcca attaatgttc 180  
 atgttctctt aacgactcag aaatacttta taacctctcc acagggtacg gctttcatct 240  
 gcccggttgc ctgttgatct atctcagaat ccacagagtg aagagacaca gagagatgtc 300  
 atagcactcc tctgttctgt attcttagca agtcaagggtg ctagtgaagc ttctggaact 360  
 atatcaccgg taattcaaaa ttcttcaagt tccttttgta tgtagattat atctttgtaa 420  
 aactcggcat ttattacctg ctctttgttt caaaaagcag tattttattt tgctccttag 480  
 cataggtcag cagaacagtt gatcttattc agaaaacaat attttgcattg taacatactg 540  
 ttatctatga gatgaaaatt aatgcatgtg taataatgtc aatgataaat atttgctatc 600  
 tgaatccagt ctaccaactc tagtttagacc gaattactga ggttctatct caaagaataa 660  
 tttagtgcac catttggtca actactatga agtaaaatgg tattcccttc tattgacatc 720  
 gggttagaag tgaaaggcca tcttaatgcg atgttctcaa tgccacaaac ccacaaattt 780  
 cattaacaca tacagattat tattaacata gctataaatt ggatttccag aagcttgagt 840  
 tgaatttatt ttgttacaat tgaaagcact gggaacatta gcattttttt ttagttcttg 900  
 gttattgcaa tttataatgt tatacagaac tgtgtacctc acaatgcatt cattatgaca 960  
 ttctatgaac catttgattg actgttgctt gtaaacaaca ggatgatgag gagtctttga 1020

tgcaaggagc acgggaagct gaaatgatga tcgtagagg

1059

&lt;210&gt; 27

&lt;211&gt; 76363

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Orza sativa IR24

&lt;400&gt; 27

gatcaactaa caacctcttt gcagcaaaaa agcatacaca caagtgttg tcttggcctg 60  
gggctctgca gatggactga tactctgacc tgcagtgggc ttgggagcta acaatggttt 120  
cattcttttt ttttttatgt tttcccctgt tgtttttgct catgttttgt gtaatttttt 180  
cttctcatct agcgatgtta tttttcttag catgatggga gtagccctcc ttttttttc 240  
tctaattaag tgtaaagtag caacagcata gggatgaatg ttcagtgtag tgtgtggtgt 300  
ttcagttatt cagagacgtc catacagttt gtacctgtg accacacgtc ttaatctgat 360  
gaagcttaga ataaatcaca tgtagcaat gcaatatcat ctgcgtcttc tctcactttg 420  
gtggccatca aattctgtgt agaagtgtat ggttggtgtg ctgttgcaaa tgccgtattc 480  
cgctctgttt tgtggaagtt aagaagtccc tagttgaaat accgattttt catgatctcg 540  
gagattgatg caactctgat tgcagcattt ctttttatta gaatgtacac tccatgctat 600  
catgatgttt attgtttagt actacaagat ttggttaacc attattttta tatcataata 660  
atattataaa atcttggagt aacaagttca taatacatga tagcataact tttgaggct 720  
agtctatgta tattgtctcc ttgtttttta aactaagcac tcaataaatt attgatggct 780  
gtaattttct gaagttttca ccggtttcgg cccgtgcttt ataaatagct tcggcacaaa 840  
agacaaaacg gtccctccaa cacataaatg gttgagttta cgttttcatt atctttggtg 900  
aatcaagtc caccacgtag acatcataa caaaagtttg aatatacctca gaaattttga 960  
cttgagtcta tcttacctt gatatcggac atccaaccct cctccctcc ctgaacttta 1020  
tattattcat attacacctg aactttatat tattcatatt acaccctgaa gtggttttca 1080  
tttaattgca tacatgctga aatagtttga caacgtgaga tgcactaaaa atctacacgt 1140  
tcgtcttaag ttgcaattca ttttatecct tttcttttc tctcttacct aggaatatca 1200  
atagtactaa ttcacattac aatatagtat aaattggtta tcgattattg gcaatatact 1260  
atattaaata ttcaaaacta gtcatttaag ctgccaaata agtaaaccac tatcgaaaac 1320

cacaatataa atggcattac aaaacttagg gggttgaata tccaatttta aagttcatga 1380  
tgctagagga atttctatca aaagtttatg ggtacatatg gactttttcc tttttaaag 1440  
aagctattct tgtcgtaaac gttaaataatt tttgtactt tattttttat gattgaaaaa 1500  
aaaacttagt tttcaaaatg attggtctgt atacaagcat caattagact taataaatc 1560  
atctaacagt ttctggcag aaactgtaat ttgtttttgt tattagacta cgtttattat 1620  
ttcaaatatg tgtacgtata tctgatgtga caaccaaacc caaaaatttt ccctaactcc 1680  
atgaggcctt acagatatat ttgatgggtg taaagttttt taagtctttt gggtgcaaag 1740  
tttttaaagt atacggacac acatttgaag tattaaatat agacaaataa caaaacatat 1800  
tacatattct gcctgtaaac aacgagacaa atttattaag cctaattaat ctgtcattag 1860  
caaacgttta ctgcagcatc acattgtcaa atcatagcgt aattaggctc aaaaatattc 1920  
gtctcgtaat ttacatgcaa actgtgtaat tggttttttt ttcgtcaaca ttaatactc 1980  
catgcatgtc caaatatttg atgcgatctt tttggccaaa ttttgttgga atctaaacaa 2040  
ggatcaaatt tgctgaattt ttccagacgt cacggcttgt tcatccatcg ttcgcatcgc 2100  
gattcgccac cgacgccttg gtttccaacg aattttatca tccgcttaaa tacatccaaa 2160  
gctctccatc gccatcggcg gccaacggcg accgctccgc tctacccaat ccacccatcc 2220  
actcgccgcc gccccctgat ccaaagcctc cgccgcgccg ccgtcgagag gaggaggagg 2280  
aggaggagga ggaggcgtga gcccctatgg ggaccctcct ccggccgcgt ccgcttgccc 2340  
acgccgccgg cgccggcgac gccacgccgt cgaccgcgca cggtagccac gcgcctctcg 2400  
agaggccccc ccccccgcc gctcgtgat ctctcttctc atcctgtttg ggtttgggtt 2460  
tgtgatttgg gtgttttttt tttttccgca gcggtggtgg tgagcggtgg ccgcggccgt 2520  
ggcgtggagt gccagccgca tcgggtgcgc cgccgccggg gtccgcaggt tgcggtggcg 2580  
acggcgagct ggaggaggcg gagggagacc gtggtgagat cggatttcgc cgctggtggt 2640  
gccgctacca tgggggattc gccgcaggcg ctctcagggt tgcagcctcc tccactctct 2700  
tctcgcaaaa tgtgttgcta tgttcctctc gctgggctgg cctcatagcc attaatttag 2760  
tttgctggaa cattacattc ggaacgttgt tggcaattgc ttgacaaaat gtggaattgt 2820  
ggaggggaga aaaatcgttt gaacctgcag tgacaaaatt gccatctata attttaaacc 2880  
tgaagggtgtg gaaatcaaac ataatcattg ccagcacatc attcttggtt accaccttga 2940  
catattgttg gcttataaca gttagctcca caccaacttg gaagggtgtc atggaatgta 3000  
agtataaatt gaggataact ggcagttgtt aagactttct acagaacttg tagcagctaa 3060

aactagctat tgtgcattta tgtttcatgg aatttgagcg gcaatggata tttcttacta 3120  
agacgtataa tgcaaaaaaa aaaaaaaaac tatgtctatg cagtttacat gtaatgtgcg 3180  
gatgcaaata aaatcatgtt catggacaaa ctaatgggat tcataccaaa ttccagaatt 3240  
gcattttcta tgtggttact tttgtttgtt gatttggtta ccagacatcg atgtggtttc 3300  
aagggtcaga ggggtttgct tctacgcggt gactgcagtt gcagcaatct tttgtttgt 3360  
cgccatgggt gtggttcac cacttgtgct cctatttgac cgataccgga ggagagctca 3420  
gcactacatt gcaaagattt gggcaactct gacaatttcc atgttctaca agcttgacgt 3480  
cgagggaatg gagaacctgc caccgaatag tagccctgct gtctatgttg cgaaccatca 3540  
gagtttcttg gatattata ccttctaac tctaggaagg tgtttcaagt ttataagcaa 3600  
gacaagtata tttatgttcc caattattgg atgggcaatg tatctcttag gagtaattcc 3660  
tttgccgct atggacagca ggagccagct ggtatggctg tagtctcatc cctgctttct 3720  
taagtagaca tatatacatt tacagtattt ggtaaataaa caagatttta tgaatcatat 3780  
atgatttttg ggaaaacaca aaactctctt tgttggctgc cttgaacata gttctgttca 3840  
cacagttata gcaccttctt taaaatgaag aactttgttg catacacata aggccaaacc 3900  
acataatgaa tttgtttat ttctatctt gaatgttagc atcgtttttg tttaatgcat 3960  
gatgccttc ctatatattt gtagtatgtc aacattgtat tccatgctga gcataacaaa 4020  
tggtttgtta aaattcagga ctgtcttaaa cgggtgtgtg atttggtgaa aaaaggagca 4080  
tctgtatttt tctttccaga ggggactaga agcaaagatg gaaagctagg tgcatttaag 4140  
gttcagtaac caaacttagg ttacattaca tctaagaga tttttatatt cagtatataa 4200  
tgttaacctt ctcattgtgt actgacgtgg ttataaatgt cccagagag gtgcattcag 4260  
tgtggctaca aagaccgtg ctctgtgat acctattact cttctcgga cagggaact 4320  
gatgccttct ggaatggaag gcaccttaa ttcaggttca gtaaagctca ttattacca 4380  
tccaattgaa gggaatgatg ctgagaaatt atgttctgaa gcaaggaagg tgatagctga 4440  
cactcttatt ctaaaccgtt atggagtgc ctaaagaaag atgggtgttt tttttattat 4500  
atggaacctt ttcaaaggca cagacaggct ttcaaggcta agcttggttac aggtactgat 4560  
actagttact aattactttc gtaatcagta taaataagct tgtgtagtgt aatggcattg 4620  
tacatttctg cacttggtta atttacagaa gaggcaagta atattttaga ggattgagtt 4680  
tattcaccca gtcatatagt tgaagaggca agtaacctgt aagagaggac tgaacattaa 4740  
cacctcttgt tcgattaaaa atgaccaaag agcatcaaac atgtattcga ggctgttact 4800

ttagatatgg cccattaatt tgttttagttg tctatgtaca tcctagttgg tgtaaagtcc 4860  
 agttaccatt tctatgatct aaaacaatca actcttttag tatattttca aaaacgaaat 4920  
 tcagtacaca tgtatgaatc ttaatatcttct tctctagctc gttacaaaag caacaaaggc 4980  
 accgtgtcag ctggttcaca ttagctagtt tgtacttagc attatccact agcaccttat 5040  
 tttcatgcat atcatgctaa tttgcttgcc cacgttgagt gggaattttt ttcattgtttt 5100  
 ataatttata tatgttttag acttctagtc cacaatttat gtacttcatg ttcctgagcc 5160  
 tctagtatgg ctgatagcag actagggtgct gagtgtgtgc cttttttgca gactgaagag 5220  
 agaagaaata caagactgtc cattgttagt cagatttgta aaaatagact ctgatgtagt 5280  
 ttacttttgc ccctatttta tttttaacaa tacaatatata taacagatcc taagaactta 5340  
 tcttaattta ggagaagttg ctggtttcat taaattaaat tgtgaagtaa aaatgtgtgc 5400  
 tcgagtctgt caatgcaatc ctgtgttctt gtttgaagat atgggtgtagg gcaggccagg 5460  
 attgaacact gaatggtaag actgcttctg ccttcagacg ttattgctaa attttttagct 5520  
 acttgcagtt agtgctgcca cgccgattaa gcagtagaac aaagtagttt tgtcgtgcac 5580  
 aaatgagtta tatttcattg gaaatcgaag cgaaaacgaa tcaaaagtta gaagaaaagg 5640  
 ggaaacttgg taattactcc ataaagagag tgcattttat tggtaagatg gtatccggaa 5700  
 gctgtgagct ccgggctgta tgtattctgg caaatttgat atgagatgct cgattattgg 5760  
 ctttaagttag cgatatcaaa tttggggaag caccaaagga attattgtga aggagttagt 5820  
 ggtgcgtgac gttatctgct aggttcaaat ccttgtggct atgaatattt atctgctagg 5880  
 ttcaaatect agtgactatg aatattaatg ggtaaggtaa gggatttatt gtttaattta 5940  
 gtttctttta gattgtgcca tcggacgcca ttcggtaact gtaataatgc tttgtattgg 6000  
 attcacttgt gttacatgca cgcactaaac atgtgcttta ctttttcac tgtttttgcg 6060  
 ttctgggcta gaaactcaaa cgttgaattt tccatggtct gctcaacttg acaattactg 6120  
 cgtgtcaagc gatcttatac gcatactatg cgcacaagtg attgtatacg gatatgatga 6180  
 cagtataacg tgtgatattg atttttttta taaaaaatg atgttcattt ctttgatgaa 6240  
 ggaacaaaga ctttttttaa aagaagggtta ttactaaaaa caaaaatgac aaaaacaaaa 6300  
 tatcagtgca catggcaagt gtgctcggca attttttctc tgtactttta acaaaaatac 6360  
 ttctatatgt tcttttttat aagggtggca caaatctttt aaatgagcca aatatctaca 6420  
 ttggatttat taaaaactgt ataaattata atttatactc tgaaagggtg tgtgcatctc 6480  
 tcttggagaa aatgtataag ttgcaaacaa acattaatcc acgttatgta acttttttcc 6540

gccggaaagg ccgaaggagg cctgacggag cgtggggctc ctcaccggga gaccgcgcag 6600  
 gcccccttt gccggttcgg ccggggactc aggggtgaaat tctaagctct ctgtatgtgg 6660  
 aaggttcgcg accgtcgaaa gagcataaga cacgggcgat gtatacaggt tcggggccgct 6720  
 gagaagcgta ataccctact cctgtgtttt gggggatctg tgtatgaagg agctacaaag 6780  
 tatgagccag cctctccctt gttctgggtt ccgaatctgg aaaagtccag tccagtcccc 6840  
 ccctctaagt gggcaaggtc ctccttttat atcttaaggg gataccacat gcaccatctc 6900  
 cctcctttct gtggagactt accctacctt ttcataaatg gacggagatt tgtatagtgtg 6960  
 ccgtccgaat gaccttctga taggacggcc catacctacc tccacttccg ccgaaagcag 7020  
 gtgcgacgtg ggattatggc tgtctgctga cgacatgacc agtgtcagac tggtcacaaa 7080  
 ttgctcattc ctgtccacca cgcgtcagtt tagcaatcta catgttggcc cttcttcaca 7140  
 caacatcttg cctgtaatgg ttaggatgaa gcctggcata tatctaacca ggactaacgt 7200  
 gccatctcta ggaggttaaca cgctagctcc agctggggac gagcgcctag aagccctcgt 7260  
 cctgacggga tggggcgagg cgtgcgtcag atcgcctgtc gccacctaac ctgcgatctg 7320  
 accggtctgt gactggtcac agaccggata aacgagtga ctgcacttcg ttacatgcag 7380  
 cgtgacacgc tcagccaaac cgcaataaat gtggttaggt gagccccgt gtgctcacct 7440  
 aaccataca cgcggagcaa aaaccacga ggggtcgggg cgccctcgcc ctcggggccc 7500  
 aggcgggtgc ggtccgaccc cctcgggggg actaagagga gggcgaacac atcacctcgt 7560  
 ggcccgacgt ccccgagggt tgccaggcca cgtgggcgat tgtgtctgcc tcaaacctct 7620  
 agtcatgata ctctgatcc catgtcaccg acagtagccc ccggcggttat gccagggcga 7680  
 tcgccctctt taagggaagc ggtcgggcgt gacgccactc ctaaggcctg gtgacaggtg 7740  
 ggaccggtct ccacaattgg gcagaaaccc aacggtcaca aatcacgcac atcggcaatg 7800  
 gtaactctac tatcaataat gagcgggtctc ttcaagactg ccacattact cgagtagcac 7860  
 acgaatctgg acatggcgat tcgtttcgtc tggagatatg gtaacgtcgc tttggtcggc 7920  
 gagcgtaatt aacgcgcgca cgatatgac tatctcgact gccacaaccg catatccacc 7980  
 tcatgcgccg caagcgggcg aatgggatta gtggaagcgt gggcgcgaga aacgaggggg 8040  
 cgaaatagtg ggcgcgagaa gcgaggagcc gggcacagcg ttggcaagag tataaaggca 8100  
 ctgaggaaag gatctgtttc cttcctttcg ccatcatttc ccttgtcttc gccgcttgcg 8160  
 ccctaactcc ttctttctctg tgctctactt tcgccacacg cgctcgctct caatcttctc 8220  
 ttcttccggc gccatggcac ggggctccgc tctgctcgat ggtagcgtgc tgccgccttc 8280

ccgcatcgtg agcgagaggc aggctgggct gccgcgccgc ttcatgccgg aatctgccac 8340  
 cggccgggag atagtcacgc tgggcgaggg acgcccggcg ccagactacc cggggcggtc 8400  
 cgtcttcttt ctcccccttg caatggcagg gctgggtccg ccattttctt ctttcttcat 8460  
 ggatgttctg aagttctacg atctccagat ggcgcacctc accccaacg cggatgatgac 8520  
 attggccatc ttcgcgcacg tgtgcgagat gttcattggg gtgcgcccac ctcttcggct 8580  
 gttccgggtg ttcttcaccg tgcagtcggt gtcgccgcca tcggtagttg gtggctgcta 8640  
 cttccagcca cggggggccg tgctgaatcg ctacatcccc tgcgccctcc gcaagaagtg 8700  
 ggacgactgg aagagcgact ggttctacac cccctcgcg gacgaagcgc gcctccgact 8760  
 tccgagccag cccccggcgc aggcctccag ctggcggggcg ccggtagatc tgggggatgg 8820  
 ctatgacgcc gtcctcgacc gccctggcggg cctacgatcc caggggctca cagggacat 8880  
 ggtgtacggc gactacctc gtcgtcggat tgcgccgctc cagcggcgcg ctccggggcg 8940  
 ctgggagtac accgggtccg aagactacat gaggaccac cagggagtca gatgggactg 9000  
 ggctcctgag gatttcaaga tagtgggtcca acgggtgctg aatctcaact ccatggaggc 9060  
 gtccctcatt cccaaggaa tcttccctct ctgcagcgat ccagaccgcg cctccatcct 9120  
 gaccattatg acggcggtcg gggcctcaga ggagttagct ccaaagggcc acgacggcgc 9180  
 aggcgggagc cgtagggggg atcaatctac ccggggaggg ggtcgtgctt ctgggtctcg 9240  
 cgacggaggc ccgaggagca gccgccctgc cgacgcccg gggaagagga agcaggagg 9300  
 aacacctccc ccatctctc cccgaggggg cggggcggtg cgtgccagca gcaggcgc 9360  
 ggagggggcc gcgccgacat cgcagcccga gggggagcgc aagaagaagc ggctccgcaa 9420  
 gatgggggag acagaacat ctcagggaac ccttatttcc cctctaaagt ggtcgtttaa 9480  
 ccgacccct cgcaggttcg tctctaccc atcgtggctg tattcattct ctcaacgca 9540  
 gttttcactc acccatcttg ttcgtcttct ggtcttttct tctgtttcag cgagatccc 9600  
 tcgctccct cccgccattc caagtccggc cagtctgagg ccgaggatcc ggccggccga 9660  
 gaggcccgga ggccgggaatc tgaccggcga gaggcccgcg atcgctacg ggaagccgag 9720  
 gaggccgccc aggaggccgc ccgggctcgc caggctcagg aaaccgctcg ggaggaggcc 9780  
 gccggggccc gccaggccga ggaagccgct cgggaggagg ccgcccgagc ccaccaggcc 9840  
 gaggaagccg ctccgggagaa agccggattt cgccaggacg aggcaatggc gacttccgag 9900  
 gcagctcgc atgaggctcg gggcgctcg cttgagccca cttctcggg cgacgctcag 9960  
 gcgacaactt ccggggcagc tggcgacgag gctgcgggcg cgtcgttgg gccactccc 10020

tcaggcgacg cccaggacca accaggtccg agggacatcc ctgagtcgga cacttccatc 10080  
 ggcgggccga gccgcgtggc atcctctcca aggcggctct tccccacgcc ttctatcgcc 10140  
 ccactgagcg cagagccccct tctgcaggcc ttggccgccc caaacaccgc ggtgttggac 10200  
 gggttagtg cccaggtgga ggccctgcaa gcagagtggg cggagctcga cgccgcgtgg 10260  
 gcgcatgtcg aggagggggc gcgctcagtg gaggccatgg tggaggtggg ccgcaaggca 10320  
 caccgccggc atgtctcgga gcttgaagcc cgtaagaagg tgttggcgga aatcgccaag 10380  
 gaagtggagg aggagcgggg ggctgccctc attgccacca gcgtgatgaa cgaggcgcag 10440  
 gacaccctcc gccttcaata cgggagctgg gaggcggagc tagggaaaaa gctcgacacc 10500  
 gccagggggg tgcttgacgc tgccgctgcc cgagaacagc gggcggggga gaccgaagcg 10560  
 gcgtcccgac ggcggaaga gacccttgag gcgcgcgcca tggcgctgga agagcgcgcc 10620  
 tgcgtcgtgg agagggatct ggcggaaccg gaggccgccc tcaactatcc ggaggcaaca 10680  
 ctggcggcgc acgagtcgcg ctgtgccgaa gaggagtccg cactccgcct ccacgaggac 10740  
 gcgctcaccg agcgggagcg agctctcgag gaggccgagg ccgcggcgca acggctggcg 10800  
 gacagcctgt ccctccgcga ggcagcgcag gaggagcagg cgcgccgcac tctggaatgt 10860  
 gtccgcgccc agaggaccgc actgaaccag caggccgctg acctcgaggc gcgggagaag 10920  
 gagctggacg cgagggcgcg cagcgacggg gcggctgcgg gcgaaaacga cttagccgcc 10980  
 cgctcgtg ctgccgaaca taccatcgcc gatctgcagg gcgcgctaaa ctcgtccgcc 11040  
 ggggaggtcg aggcctccg cttggcaggc gaggtagggc ccggcatgct ttgggacgcc 11100  
 gtctcccgcc tagatcgcg cggtcggcag gtgggcctct ggagagggcg gaccgtaaag 11160  
 tacgccgcca accatggagg cctcgcccag cgcctctcga agatggccag ggctctccaa 11220  
 cggctccccg aggagctcga gaagacaatt aagtcacct cgagggacct cgccaagga 11280  
 gcggtggagc tcgtactggc gagttaccag gccagggacc ccaatttctc tccatggatg 11340  
 gcgctggatg agttccctcc tgggaccgag gacagcgcgc gcgcaggtcc gggatgccgc 11400  
 cgaccatatc gtccacagct tcgagggtc agccccctcg ctcgcgttcg cccccaactc 11460  
 cgacgaggag gacaatgccg gtggtgcaga cgacagtac gatgaggccg gcgacccggg 11520  
 cgtatcgat tgatcccca agccccgcc attctttagt tttttctct tttcttctt 11580  
 ctaaggcctt cgggcctctt tttgtatag atcaacttaa tctgtaatca aaaatgaaga 11640  
 aatttttgt tcaatttcat cttgctgtgt gtatgagatg aggatgatct gtgacgtggg 11700  
 ccttttgcgt cttagcttga ttaagggtc gtgccagggt ccagtcctc aaaaggcgtg 11760



ggtcggggct agtgcctggg gagatccaca tgtcgagact ggccaggccg ggaacgtggt 11820  
gaccgagggt tatgggtgac ccgattgtgg gtttttgccg attccccccc ggagttcacc 11880  
acgccccggg gcacggctcg gttctgggcc ccgtttggcg attttagccg acccgagccc 11940  
ccgagggcag gattgagcac gaggaccta tttcaagtca agattcttca aaaggaaaaa 12000  
aaaacacaga tacagccttt aggaaattga aactgctttt attgaaatac tgaaataaga 12060  
gaaataagaa tgtgcatgtg tggcagcccc cggccaacgc tgcacgcccg agggggtgcg 12120  
gggttggccc gagcccgaac cctgacaccc gacccccccc tcaggggtag aagcgacgaa 12180  
ggtgttcgat gttccacggg ttaggcagct caatgccgtc gcccgtaggc agccgtatgg 12240  
agcccgccg ggggacgccc accactcgat acggaccctc ccacattggt gagagcttgc 12300  
tcaatccagc acgcgtttgg acgcggcgta ggacgaggtc gtcgacgcag agtgatcggg 12360  
cccggacgtg acgctgatgg tagcgccgca ggctctgctg gtagcgcgcg gctctgaggg 12420  
ccgcgcgccc cttcgtctct tccaagtagt cgaggctatc tctgcgaagt tgatcttgat 12480  
cagcctcgca gtacatggtg gcccgaggag acctcagggt gagctcggat gggagaaccg 12540  
cttcgcgcc gtagacgagg aagaaaggcg tttccccgtt tgctcggtt ggtgtagttc 12600  
ggtttgccc gagcaccgt agcaactcct cgatccatga atcgctgtgc ttcttgagta 12660  
tgttgaagggt cttggtttta aggcctttga ggatttctga attggcgcg tccacttggc 12720  
cattgcttct ggggtgggca ggtgaggcga agcagagctt gatgccatg tcttcgcagt 12780  
agtcgccgaa gagttcacta gtgaattggg tgccattatc cgtaataata cggtaggca 12840  
ctccaaaccg ggccgtgatg cccttaatga atttaagtgc ggagtgccta tcgatcttga 12900  
cgaccggata agcctcgggc cacttagtga acttgctgat cgcgacatac agataactcaa 12960  
acccgcccgg ggcccgccta aacggtccca ggatatcgag cccttagaca gcaaatggcc 13020  
acgaaagtgg tatggtctgc agggcctggg ccggctgatg gatttgcttg gcgtggaatt 13080  
gacacgctct acatgccgg accaggtcga ccgcatcatt gagagctgtc ggccaataga 13140  
aaccttggcg aaaagcttta ccaaccaagg tgcgcgaggc ggagtgggct ccgcattcgc 13200  
cttcattgat atcggaaga agcacaacgc cttgttccc aggaatgcac ttcaggagga 13260  
ttccattagc cgcgcgccga tagagggtcc cttctaccag cacgtagcgt ttggagatgc 13320  
gatggacgcg ttcactccct tcgcggctct cgggtaaagt cttatctgtg aggtatgctt 13380  
ggatctcggc aatccaagca atcaatctaa gggagctggg agcgctcccc tcgggtccc 13440  
aggcctggac ttcgacgggc ctggggggcc ggtcaggcgc gtccgtctcc cctaagggg 13500

cgggtcgcgc cgacggctgg gcaagccttt cttcaaaggc gcccggtggg gtctgggctc 13560  
 gcgtggacgc gagccgtgag agttcgtcgg caatcatgtt atcccgtctg ggcacatgcc 13620  
 gaagctcaat cccgtcaaaa tggcgctcca tacgccgtac ttggcgcacg taggcgtcca 13680  
 tctgcgggtc agagcaccgg tactccttac agacttggtt aacgaccagc tgggagtcgc 13740  
 ctaacaccag gaggcggcgg atccccagtc cagctgccac tctgagtccg gcaaggagtc 13800  
 cctcgtactc tgccatattg ttagtcgctc gaaagtcgag gcggaccaag tatctgagga 13860  
 cgtctccgct cggagaggtc aacgtgaccc ccgcaccggc gccctgaaga gacagggagc 13920  
 cgtcgaactg cattaccacg tgggcgggtgt gaggcagctg cgaggggtcc gtgctggcct 13980  
 cggggattga gacgggctcg ggagccgggg tccactctgc cacaaaatcg gcgagagcct 14040  
 ggctcttgat agcgtgacgt ggttcaaagt gcaaatcgaa ctcagaaagt tcgattgccc 14100  
 atttcaccac ccgtcctgta ccctctcgat tatgcaagat ttgaccgagg gggtaagacg 14160  
 taaccacagt gacccgatgc gcctggaaat aatggcgagc tttcctcgag gccatcagaa 14220  
 tagcgtaaag catcttctgg gcctgagggt atcgggtttt ggcgctcccg agggcctcac 14280  
 taacaaagta gacgggccgc tgcaccttcc ggtggggccg atcctcttcg ctaggggccg 14340  
 catccctggg gcactcttcg tccaagcagc ctcgcggggc gcacttgtct tctgtgctga 14400  
 tgacctcggg gtcggaggat aacaggggcg gccttcccac agtggtttg gggccgtcct 14460  
 gggggtcagg ggctcctggc gtcgtcggac aagcgggcaa agggccaact ccggtcgtca 14520  
 ggggccttag gcctccgttc ggctcggggg cctcttctcc ctgctcttcc ccgggtcgag 14580  
 tcagcacagg gttagcctcg ggggtcaaagg gcgatagggt cggccttccc acagtggcct 14640  
 cagggccttc ctgggggtcg ggggctccta gcaccgtctg acaagcgggc agagggccaa 14700  
 ctccggtcgt cgggggcctc aggccaccgt tcggctcggg ggcctctcct ccctgctctc 14760  
 tcccgggcca agtcggcaca ggggtggggaa gcgcgaaatg agaattatcc tcatcgcgct 14820  
 ccacaaccaa tgccgcacta actacttgcg gggtcgccgc taagtagagt agcaagggtc 14880  
 cgtctggctc cggggcgacc ataactgggg gagagcttag atacgccttc aactgggtga 14940  
 gggcatcttc agcttcttcc gtccaggtaa acggtccgga gcgtttgaga agcttaaata 15000  
 agggtaacgc ctctctccc agcctcgata tgaaccgact tagggcggcc atgcaaccgg 15060  
 tgacgtattg cacatcccta agtttgctgg ggggcgcac cgtctatag cccgtatctt 15120  
 ctcgggggtg gcctcaatgc cccgggcaga gaccaagaac ccgagaagct tgcccgcagg 15180  
 tacaccgaac acacacttat cgggggttaa ttttatgcgg gcggagcgga gactctcaaa 15240

agtttccgct agatctatga gtaacgtttc ctggttgccg gtctttacaa ccaagtcac 15300  
 gacataagcc tcaatattac gtcctaattg gctaccgaaa gaaattcgag tagtacgttg 15360  
 aaaagtagga cctgcattct ttaacccgaa gggcattgtc gtataacaat aggttcctat 15420  
 gggggtaatg aacgcagttt tttcctcatc ctccctagcc atgcgaatct gatggtaacc 15480  
 agagtatgca tctagaaaac acaaaaggtc gcaccccgca gtggagtcga caatctgac 15540  
 tatgagagc agggggtaag gatccttagg acatgccttg ttaaggtcgg ttagtcgat 15600  
 gcacatccga agcttgccgt tcgccttggg aacgaccacc gggttcgcca gccactcggc 15660  
 ggggttgacg ctgccatcat atttttcggc gatggtgggc cggaaccttg ggggccaacg 15720  
 gacattccga agactcgcca caaaggctct acagccgaca ccaccaaccg ggggcacgga 15780  
 gggctgattc ccgcgtccgt gttgaggtga cactctggac gaggaagcgc cctccgttgc 15840  
 gtgggcagca cttcggtcac tacgccggcg ctgatgctg gtgcgggcgt ccggcccccc 15900  
 acgcagatct ttctgggtcg aaggagtcga cgaaggagtg gcggccgaat ggccaacagc 15960  
 ggctgccgct cgtcgtgccc tccgtcttga cgacgcggag ccggtggtag cagcaccaga 16020  
 ggcccttggtg gcggaggacc gccaccagc atctaggcgc tgccgtgccg tcatgactaa 16080  
 tttggccacg tcgtccagcc atcgttgggc tggagactcc gggtcaggga cgacaggcgg 16140  
 gtgacgtaag agcgcgccc cagcttgag cgcgccctgg ggctgctgc cgtcgccgta 16200  
 gacgaggagg cgacgtccc catctcgcc ttcttctcca tcgcccga tcggtgaagt 16260  
 cgcggtatct tcgacctct cgagcgctc ccccgctta ggactttggc atggaggag 16320  
 cgggtggagta cgagctcgac ggctgggtt cggtccccg tcgtcgccac tcactcgg 16380  
 agagaggtcg tgcgccttg cttgctcggc catcaggctg aacaggaaaa gcttggcgca 16440  
 cacggaagag tacgagagct cagaaaaaca cactgagt cccctacctg gcgcgccaga 16500  
 tgacggagcg tggggctcct caccgggaga ccgcgcaggc cccctttgc cgttcggcc 16560  
 ggggactcaa ggtgaaattc taagctctct gtatgtggaa gggttgcgac cgtcgaaaga 16620  
 gcataagaca cgggcgatgt atacaggttc gggccgctga gaagcgtaat accctactcc 16680  
 tgtgttttgg gggatctgt tatgaaggag ctacaaagta tgagccagcc tctcccttgt 16740  
 tctgggttcc gaatctggaa aagtcagtc cagtcagtc cccctctta agtgggcaag 16800  
 gtctctcttt tatatcttaa ggggatacca catgcacat ctccctcctt tctgtggaga 16860  
 cttacctat cttttcataa atggacggag atttgtatag ttgccgtccg aatgaccttc 16920  
 tgataggacg gccataacct acctccactt ccgccgaaag cagggtcgac gtgggattat 16980

ggctgtctgc tgacgacatg accagtgtca gactgggtcac aaattgctca ttcctgtcca 17040  
 ccacgcgtca gtttagcaat ctacatgttg gcccttcttc acacaacatc ttgcctgtaa 17100  
 tggttaggat gaagcctggc atatatctaa ccaggactaa cgtgccatct ctaggaggta 17160  
 acacgctagc tccagctggg gacgagcgcc tagaaacct cgtcctgacg ggatggggcg 17220  
 aggcgtgcgt cagatcgct gtcgccacct aaccgcgat ctgaccggtc tgtgactggt 17280  
 cacagaccgg ataaacgagt gcactgcact tcgttacatg cggcgtgaca cgctcagcca 17340  
 aaccacaata aatgtggta ggtgagcccc gctgtgctca cctaaccat acacgcggag 17400  
 caaaaacca cgaggggtcg gggcgccctcg gccctcgggg ccgaggcggg tgcggtccga 17460  
 cccctcggg gggactaaga ggaggcgaa cacatcaccc tcgggcccga cgtccccga 17520  
 ggggtgccagg ccacgtgggc gatttgtct gcctcaaacc tctagtcatg atactcctga 17580  
 tcccatgtca ccgacaaggc catccgaatg tattaaggag taaaagtac aagaaaaaac 17640  
 accataatgc accaatgtgc atgaccacac accatacact accccaagc acaaaccact 17700  
 gagggatgaag cctagcacca aacgaccgcc actaagtgtg accaaacgcc gctaggccta 17760  
 cggcagcaac acatagatga gacttcgaaa acgatgccac caaggtggtc acgacatcta 17820  
 ggatgctgcc atcgtccatc taaaaagatg tggttttcac ccagagaaac tcatcaagaa 17880  
 ggggagaggg taacccttga cagcgcccca aggagggtac gacggccgaa ggcgtagccg 17940  
 ctgccggtcc ggtgaaccac cggactaggc ttccgcctag gaccctatag ccttgatcgc 18000  
 agatcacctt ccaccactca gaaccaccac acagacaaaa ggtagcacgt agcttccacc 18060  
 acaccgcacc gacgcccctt cgtcggccga ctccatcgaa ccaccatccc tgagagctgg 18120  
 cccaggaccc ctccgttcca ccaccgcgc gccgccttgc cagttttggc caaaggagaa 18180  
 cccgggactg ggtgacattg cttcggcagc ctgagcttcc cccgctggcg agctgctgtc 18240  
 tcaatccaac ctagaaactc cccgcaaaag aaggggatga gctctaggaa gggcgagggt 18300  
 gccgaccggc aacgaggaag acaaccatc gactccagct ccctttgcac taccatctgg 18360  
 ccctgcgcca atgccggata cgctgtcgt cgggtccgg cgccaccac ctgcaccccc 18420  
 ttgcctggt ctccgcgccc ctctggctg cgtcgcgccc cccagctggc cgctaagggc 18480  
 accgcgacgg ccgcccggct accgaggcct ggccgcgcca tgggacagct cgcgctggca 18540  
 ccagcgagcc acggccgtcg cgctgttgcc ggcgccagcg agcacaaccg ccagctccaa 18600  
 gggccgagca tgccactgag ccgccgccc tgccgcccgg gccggctgca cgtcaccggc 18660  
 gcacacgacc gcacgcccgc acgtccgccc tccgcgccc aggagcccc atgccattgc 18720

cgcgacacctc gcccgcccgc tgccgagccg ccaccgcgca ccttgctgag ccgccaccgc 18780  
 cgtccctagc cgctcgtgc cgccgccacg ccagatccag gcgcgggatg gccggatccg 18840  
 gccttggggg cgccggatcc accgcctccc cacaccgcca cggcgtcacc acctccgacc 18900  
 gcagtgaggg cttcgtcgtt tgccccatcc tcatcgcgtc gaggaggaag acgccaagaa 18960  
 aaaagggcct cgccgctgcc ttccttgctc gctgccggct tcgccgccgg cgagctccgg 19020  
 cggcggcgag gtgggggaga agaagtgggg agtgggcagc tagggttttt tcgccccca 19080  
 agccgcccggt gcgagagcga cggtgggggg gggggggact ttccaacctc ttccagtgtt 19140  
 ctagttctcc acgttatgta actcaatttg ttttaaccata gaaagtaaga aacctaccag 19200  
 cgtgttaagc tctctttcat tccctttctt cttcctgggt ttgcttccat cacatgtcaa 19260  
 gtgaagggtt cttactacc attactccta cacatctaata ttttttctca gatctttcgc 19320  
 aggtatatat tgatgctaca ttttatgac ttaagataat ctccttcaca ttaccctctg 19380  
 ctgaaacttt agcttgaacc gtcatttca ccacaatttg agcccaattt gcacagagca 19440  
 caacgagcaa tagcttgccc ttacgttcat tathtagcat gaactactac taactaccca 19500  
 agaatcaata caccggttta ataacgcat tttatcacgt taatatatgt ttcatccaac 19560  
 acaccggttt tggcacagtt gcaaacttgc aataaattct ttcctacttc tccatcccat 19620  
 aatataacaa attggtatgt ctgctctggt actaagttac tatattatga gatggaggga 19680  
 gcacttcttt tcttccaaaa tataagaata tagtattgga ttagatatta tctagattca 19740  
 cgaattcgat taggttgtct agatttatag ttgtatgtaa tgtataattc ggtaataggt 19800  
 tattacctct caggatggag ggagtagttt tgactttttt tttcttataa atcgctttga 19860  
 tttttatatt agtcaaattt tatcgagttt aactaagttt atagaaaaaa attagcaaca 19920  
 ttttaagcacc acactagttt cattaaattt agcatggaat atattttgat aatatatttg 19980  
 ttctgtgtta aaaatgctgc tatatttttc tataaacgta gtcaaattta aataagttag 20040  
 actaaaaaaaa atcaaaacga cttataatat gaaatggagg aagtagtaga ctataacaaa 20100  
 tttaaaccgt gctttgattt tagagcatca ctaatatgtt agcaataatc tatccctaaa 20160  
 atttattttt tttcctaaac tgaaaatagg aagtggaaat actcctccat ctaagagaga 20220  
 gcctaaattc aataaaaaaac taaaaaacta aaggtggatc cctctattaa actaccgcaa 20280  
 aaaatttatg ttttttttct cttccacgcg cgcagaacag atatctcgat caagtttagca 20340  
 tgtaaaattt ttaagagat acctatacg actccttccg tatttccaaa agcaaacgga 20400  
 tttaaaatct gactcaaata aagatctata tatccaattt acatgacaca tgtttcgccg 20460

aatttttata ttaataataa ttaatatattt taaaattaaa ttattagcaa tttgttttga 20520  
ggatttatca aaacaggatg gacgttgttt ataacagcgt ctagacctag acgcgcttgc 20580  
aaactgcggc caccctttta tcacacaaat ttttgacaat ttgacacitt ccaaaaatta 20640  
attttataaa ttaaccgtga ccaaaactta tttaaaaatg atctttttgt tgagcgcaaa 20700  
atcgtatact tcagegccaa atagcacggc gccgacctcc cccttcccct cccctctatc 20760  
ctccactgct gccgcccacc tctccgtatc agctgcgtcg cgttggtttc cgccggcgct 20820  
gctgctgctg caccagtccg ctagggcggg cgggcatggc gcgccgcgcc gcttcccgcg 20880  
tccgcgccgg cgctgttggc gcccttcgct cggagggctc gaccaaggg cgagggggcc 20940  
gcacgggggg cagtggcgcc gaggacgcac gccacgtgtt cgacgaattg ctccggcgtg 21000  
gcagggggcg ctcgatctac ggcttgaact gcgccctcgc cgacgtcgcg cgtcacagcc 21060  
ccgcggccgc cgtgtcccgc tacaaccgca tggcccgagc cggcgccgac gaggttaactc 21120  
ccaacttgtg cacctacggc attctcatcg gtctctgctg ctgcgcgggc cgcttggacc 21180  
tcggtttcgc ggcccttggc aatgtcatta agaagggtatt tagagtggat gccatcgcct 21240  
tcactcctct gctcaagggc ctctgtgctg acaagaggac gagcgacgca atggacatag 21300  
tgctccgcag aatgaccag cttggctgca taccaaatgt cttctcctac aatattcttc 21360  
tcaaggggct gtgtgatgag aacagaagcc aagaagctct cgagctgctc caaatgatgc 21420  
ctgatgatgg aggtgactgc ccacctgatg tgggtgcgta taccactgtc atcaatggct 21480  
tcttcaagga gggggatctg gacaaagctt acggtacata ccatgaaatg ctggaccggg 21540  
ggattttacc aaatgttgtt acctacaact ctattattgc tgcgttatgc aaggctcaag 21600  
ctatggacaa agccatggag gtacttacca gcatggttaa gaatggtgtc atgcctaatt 21660  
gcaggacgta taatagtatc gtgcatgggt attgctcttc agggcagccg aaagaggcta 21720  
ttggatttct caaaaagatg cacagtgatg gtgtcgaacc agatgttgtt acttataact 21780  
cgctcatgga ttatctttgc aagaacggaa gatgcacgga agctagaaag atgttcgatt 21840  
ctatgaccaa gaggggccta aagcctgaaa ttactaccta tggtagcctg cttcaggggt 21900  
atgctaccaa aggagccctt gttgagatgc atggtctctt ggatttgatg gtacgaaacg 21960  
gtatccacc taatcattat gttttcagca ttctaataatg tgcatacgt aaacaaggga 22020  
aagtagatca ggcaatgctt gtgttcagca aaatgaggca gcaaggattg aatccggata 22080  
cagtgccta tggaacagtt ataggcatac tttgcaagtc aggcagagta gaagatgcta 22140  
tgcgttatatt tgagcagatg atcgatgaaa gactaagccc tggcaacatt gtttataact 22200

ccctaattca tagtctctgt atctttgaca aatgggacaa ggctaaagag ttaattcttg 22260  
 aatgttgga tcgaggcatc tgtctggaca ctattttctt taattcaata attgacagtc 22320  
 attgcaaaga agggagggtt atagaatctg aaaaactctt tgacctgatg gtacgtattg 22380  
 gtgtgaagcc caatatcatt acgtacagta ctctcatcga tggatattgc ttggcaggta 22440  
 agatggatga agcaacgaag ttacttgcca gcatgggtctc agttggaatg aaacctgatt 22500  
 gtgttacata taatactttg attaatggct actgtaaaat tagcaggatg gaagatgcgt 22560  
 tagttctttt tagggagatg gagagcagtg gtgttagtcc tgatattatt acgtataata 22620  
 taattctgca aggtttatctt caaaccagaa gaactgctgc tgcaaaagaa ctctatgtcg 22680  
 ggattaccga aagtggaacg cagcttgaac ttagcacata caacataatc cttcatgggc 22740  
 tttgcaaaaa caatctcact gacgaggcac ttcgaatggt tcagaacctg tgtttgacgg 22800  
 atttacagct ggagactagg acttttaaca ttatgattgg tgcatgtctt aaagttggca 22860  
 gaaatgatga agccaaggat ttgtttgcag ctctctcggc taacggttta gtgccagatg 22920  
 ttaggacctg cagtttaatg gcagaaaatc ttatagagca ggggttgcta gaagaattgg 22980  
 atgatctatt tctttcaatg gaggagaatg gctgtactgc caactcccgc atgctaaatt 23040  
 ccattgttag gaaactgta cagaggggtg atataaccag ggctggcact tacctgttca 23100  
 tgattgatga gaagcacttc tccctcgaag catccactgc ttccttggtt ttagatcttt 23160  
 tgtctggggg aaaatatcaa gaatatcata ggtttctccc tgaaaaatat aagtccttta 23220  
 tagaatcttt gagctgctga agccttttgc agctttgaaa ttctgtgttg gagttctttt 23280  
 ctctacagt cgtattagag gagggatctt ctctttatgt gttaaatacg aggtatgtat 23340  
 gtcacctctc cgaattatct ttactctggt tcctagacgg taaacaagca attatgttct 23400  
 gcccttgatg ccagaaaaaa cacaaaagtt tgtcgttata tctactaacg gatcataaag 23460  
 gaatttgtaa ctggagtttc aaacttaatt tgtctaggca gtagttttgg cattagatcc 23520  
 aacattgtgt aggattcatt tgtgtgtatc aatctatagg gtttcattaa atttcgttta 23580  
 tgtgtactgt ttaggtgttg aatagtttga cttgtttttt aactgaacaa aagatactga 23640  
 aatcgttcca ttcaacaaac acatgttccg ttaatgaaat tattgtacgt taccttttgt 23700  
 tttcttactc acaagtgtcc tcttttctta tctctatag attggtacaa caaattattg 23760  
 attcaatttt ggttttgaac attgatgac ctccctgcac tattggtgca gctgctcttc 23820  
 tattcatctt gtgaagtgat gtgagtacct ctcaatccca tccttatgct tctgtgcatg 23880  
 cttcattcca attttttacg catatcgatt gttttctttt atataacagt ccataaagat 23940

aatcacatca tgacaaagtt atttatttct acagtatagt tatataagta ttcaccagtt 24000  
ttccatgaat attttggcat gtgattacaa agaagattat ttgagaaaat ccatgctttt 24060  
atttcatcat tttgtttgaa gttgaacttt aatttatggt gtaaatttca gttattattg 24120  
ctagcagctc gtactcttta atgggtataac ttcacttggt cttattctcc aatatctccc 24180  
ttcttgttgt tcaggttcaa gaaaatcatt tgttggattc agaactctgt gtccattttc 24240  
ttcttaaatt attaaatcct ccagtgaatc ttgttgattc caaagcacca tcgatagggt 24300  
ccaaacttct tggaatcagt aaagttcaaa tgcttaatgg atcaaataag gattctgact 24360  
gcatttcaga ggaaatcctt tcaaaagttg aagagattct cttagctgt caagtgatca 24420  
agtcgctcga caaagatgac aagaaaacaa caaggccaga actgtgtcca aagtggcttg 24480  
ctttgttgac aatggaaaat gcattgctgt ctgctgtttc agtagagggt aagttttaat 24540  
caaatttctt ggtcatgatt tccctttatg accattatat ttatttatat gagccaaata 24600  
agcagttgtc aacttgtcat aagttacata gcacctatit gcaatattca tgggtggttt 24660  
gcttagccct tttcttcacc tgcttttgat tgatgacttc catctgtgtt gcagaattga 24720  
attggagtag tggactgcac tagaagcacc tatggccatt gtcatactag gaaggttttc 24780  
ccttatcaaa tatttgattg ttacagagac ttctgacaca gtgtccagag ttggaggaaa 24840  
ttttaagag acattaaggg agatgggagg tcttgatagt atttttgacg ttatgggtgga 24900  
ttttcattca acattggaga tgagatctcg ctaacatcgc atattttaca tttcctttgt 24960  
tcaactctaa tagattgtgc aggcttggtc cttttcgcca ttttagcttt aatgcgcttg 25020  
aagccacatg aaagtaatgc ttgtccagat acatagccaa aggttggtat attttggggc 25080  
atggaaaatg cttgaggtag taactatit catcaggaca tggaaaattg gctgcaacac 25140  
aaattatgtt gttttatgtt gcaaaaatag ttttttaata cttttttatt ctgcatgtgg 25200  
tgtagtatac ttacagttcc tctgatgatt atatcccca cgataataac acttgaaacg 25260  
ataataacac ttgacataac tacaccaagt gaacattatt catttgatg ttacttttcc 25320  
agctatactt gctgttcttg catgtgtaag caagtttgga gtaaattgag cattaattta 25380  
aatgcttggt gttcctatct gtgtactttt tattcccca ctaataatgc aatcatatta 25440  
cgctgataaa ctgaataaat aaattaacaa tatacttctg gtggcaaacc ttgtgtatca 25500  
gaatctcata aaggatacat ccacttcagc tttggaccga aatgaaggaa catctttgca 25560  
aagtgtgct ctcctcttga aatgtttgaa aatattggaa aatgcatat ttctaagcga 25620  
tgataacaag gtaatgctcc ttatatgtt tgtttcagtt tagtacctat ttccttcttc 25680



tgtactatct tctctcctga ttgtttctgt gcaaaatgtg caaacagtg gactttgtat 25740  
 gtctgcttaa caattttctt ttcttccctga aaaagcaata tgaactctta cattcatttt 25800  
 gcttcttgca gaccatttg cttaatatga gtagaaaatt gaacccgaaa cgctccttg 25860  
 ttctttttgt tgggtgcatt atcaatacta ttgagttatt atcaggtatt ttctttaata 25920  
 atacaatgtg ttcgctaaca caataaaatg ttttaaacat ccagtatgtt aaagttgcag 25980  
 tctgacgcct attttgtttt gctgcagctc tttcaatact tcagaattct tctgttgttt 26040  
 ccagctctac atatccgaaa tcgtctaaag tctctcaaca gagttactct ggtaataaca 26100  
 aacaccaatt ttgtttgatc agttgatctc gttggctttt ctatgcactg tctcaatata 26160  
 gtttggctgc cattcaagtc tctactacaga tgttgaactt ggcttgacac caaatattta 26220  
 taaaatgcta cctgatattt ttaatatctc atgtttcctg acccagatta tcttgttgg 26280  
 tcctcgata agtttaatta gtgacattct tgaagctttg ttatgcagca gatgtcatgg 26340  
 ggggaacttc atttaatgat ggaaagagca agaactcgaa aaaaaaaaaac tttgtcgaa 26400  
 ccagacacgt cattgttgct tatcttcaaa atcagaagtt tctcatatta ctatatcttc 26460  
 tggtagtgat gctggctctgt cacagaaggc attcaattgt tctccattta tatcaagcaa 26520  
 tggggcatca agtggttcat taggcgagag gcacagcaat ggtagtggtt tgaagttgaa 26580  
 tataaaaaag gatcgtggca atgcaaatcc aattagaggc tcaactggat ggatttcaat 26640  
 aagagcgac agttctgatg ggaactccag agaaatggca aaaagactcc gtctatctta 26700  
 aaatgtaatc accgacagtg gtgggtggta tgaccctttt gcatttgacc gccgcgtcgg 26760  
 cgtcgccacc acgtaatcgc ccacgtcgtc gccccgctg ccacgtcgtc gaccgcgcac 26820  
 ggtaatcaca cgcattctga ggccgccgt agctgatata ttctcatccg gttgatttgt 26880  
 gattttggcg tttttgcagt ggtgatggcg gggggcgacc gtggccgagg cgtggagtgc 26940  
 catccgcac aggggtgtatc ggccgcgtc ctccgccctg gtccgcaggc tttggcgcg 27000  
 agctggcggc ggaggagagac tgtggtgaga tcggatttcg ccgctggtgg tgcgctacc 27060  
 atgggggatt cgcgcaggc gctctcaggt ttgcagcctc ctccactctc ttcccttttt 27120  
 tatttttttt tctcgcaaaa tgtgttgtga tgttcgtctc gctgggctgg cctcatagcc 27180  
 attaatgtag ttgctggaa catttacatt tggaacgttg ttggcaattg ctttacaaaa 27240  
 tgtggaattg tggaggggag aaaaatcatt tgaacctgca gtgacaaaat tgccatctct 27300  
 aattttaaaa ctgaagggtg ggaaatcaaa cataatcatt gccagcgcac cattcttgtt 27360  
 aaccacatg atatattgtt ggttataaca gttagctcca caccaacctt gaaggtgtca 27420

atagaatggt tagtataaat tgaggagaac aggcagttgt taagactttc taaagaactt 27480  
 gtagcagcta atactagcta ttgtgcattt gtgtttcatg gaatttgagc agcaatggat 27540  
 atttcttact aagatgtatg atgcaaaaca aaaaactatg tctatacagt ttacatgtaa 27600  
 tgtgcggatg caaataaaat catgtacatg gacaaactca tgggattcat accgaattcc 27660  
 agaattgcat ttcttatgtg gttacttttg ttgttgattt ggttaccaga catcgatgtg 27720  
 atttcaaggg tcagaggggt ttgcttctac gcggtggctg cagttgcagc aatctttttg 27780  
 tttgtcgcca tggttgtggt tcatccactt gtgctcctat ttgaccgata ccggaggaga 27840  
 gttcaggaaa aaaatttgaa aatacccat ttttgaaaa gatttacgtt tatatacact 27900  
 agtatgaaga atttgcgaaa atataactaa tccgcagatc ggttatgcgg gagcgcaaca 27960  
 aaagtatggc gtggcggcgc ggagtggacg gccgaggcgt tcgcgcggaa tggggctgcg 28020  
 ggaccgagcc agtctcgctt gccggtaacg cggaaccggt acgctcccgc agcgccagtg 28080  
 tgcggaaccg cggcgccaac atttttttac tgcattggcac tgtgtttaat actgtttgac 28140  
 actgtttctg gtactgtttt acacagttcc cgggtcagtt ccgcacaatg gaggcgcggc 28200  
 accgaccatg aacaatgtgt gaacagtgtc gcacagggtt aaaacagtgt ataaactgcg 28260  
 ctgcacagtg ctggagtcgc tggccactgc ggttccgcgt tttggaaccg cgggaccgtc 28320  
 gcgattccgc gttttggagc tgccggacca tgacggttcc gcgcaggatc gtcggtcccg 28380  
 tattttgaat ctgcggaacc gtcgctgtcc cgcgtttcca tttcgcgga tgcgtatatt 28440  
 tttataaaac ctctccatgc atgtatataa acataaatta ttgaaaaaat aagtatattt 28500  
 gcaaattttt ttcgagagct cagcactaca ttgcaaagat ttgggcaact ctgacaattt 28560  
 ccatgttcta caagcttgac gtcgagggaa tggagaacct gccaccgaat agtagccctg 28620  
 ctatctatgt tgcgaaccat cagagttttt tggatatcta tacccttcta actctaggaa 28680  
 ggtgtttcaa gtttataagc aagacaagta tatttatgtt ccgaattatt tgatgggcaa 28740  
 tgtatctctt aggagtaatt cttttgcggc gtatggacag caggagccag ctggtatggc 28800  
 tgtagtctca tccctgcttt cttaagtaga catatatgca attacagaat ttggtaaaca 28860  
 aacaagattt tatgaatcat atatgatttt ggggaaaaca ccaaactctc tttggtggct 28920  
 gccttgaaca tagttctatt cacacagtta tagcaccttc tttaaaatga agaactttgt 28980  
 tgcatacaca tatggccaaa ccacataatg aattttgttt atttctatct ttgaatgtta 29040  
 gcaccttatt ttcatgcata tcatgctaatt ttgcttgccc acgttgagtg ggaatttttt 29100  
 tccatgtttt ataatttata tatgttctag acttctagtc cacaatttat ctacttcatg 29160

ttcctgagcc tctagtatgg ctggtagcag actaggtgct gagtgctgtc catttttgca 29220  
gactgaagag aggagaaata caggactgtc cgttgttagt cagatttgta aaaatagact 29280  
ctgatgtagt ttatttttagc ccctatttta tatttaacaa taaaaatata taacgtatcc 29340  
taagaactta tcgtaattta ggagaagttg ctcgtttcat taaattaaac tgtgaagtaa 29400  
aaatgtgtgc tcgagtctgt caatgcaatc ctgtgttctt gtttgaagat atgggtgtagg 29460  
gcaggctagg atcgaacact gaatggtaag actgcttctg ccttcatttg tgcacttggt 29520  
gctgccacgc cgattaagca gtagaacaaa gtaattttgt cgtgcacaaa tgagttatat 29580  
ttcattgaaa atcgaagtga aaatgaacca aaagatagaa gaaaagggga aacttggtta 29640  
ttatatactc cacaaattta ttggtaagat ttgatattag acgctcgatt acttggttta 29700  
agttaaggat atcaaatttg gggaagcacc aaaggaatta ttgtgaagga gttgtgggtg 29760  
cataacgtta tctactagtt caaatcctag tgactatgaa tattaatgag taaggttaagg 29820  
gattttattgt taatttttagt ttctttaaga ttgtgtccga gtacaccatt cggttaagtgt 29880  
aataatgttt tgtattggat tcacttgtgt tacgtgcatg tgcttttacc ttttcatttg 29940  
tttctgcgtt ctgggtatga atttgacgag attccatggt cagctcaaca tatcagttac 30000  
tgcgtgtcaa gcgatcttat atggatatgcg cacaagcgat tgtatacgga tatgacagta 30060  
taatgtgtga tattgatacg atgttccttt cttttataaa ggaacaaaga ctttttttaa 30120  
aaaaagaagg ggtattacta aaaacccaaa tgtcaaaaac aaaatatcag tgcacatggc 30180  
aagtgtgcac gagcaatagc ttgcccttac gttcattatt tagcatgtac tactactaac 30240  
tacgcaaaaa tcaattcacc gattattaaa ctgttaacat cattttagca cgttaacata 30300  
tgtttcattc aacacaccgg ttttggcaca tttaaaaact tgcaaagttg caatactccc 30360  
ttcgttacat agcataagag attttaggtg aatgtgacac atctatccaa attcattata 30420  
ctagaatgta tcaccgcctc cacgccggga gggagagcgc cgccggtgga gaaaggggga 30480  
gggagtggtc gaggggaacc agtaggggtgc cctccccgtc gccgcctccc cgtggccgcg 30540  
ccggcgagac aggaggaaga gggggagatg gagcggcgcc gccggtgagg gcgcgcgtgc 30600  
gcgggggggg ggggggggga gcggcgacgc cggtgaggaa gggaagggga gtggtggctt 30660  
tgagagagat aggggagagg gaaaatgatt ttagagttag ggtttgggct gctgagtttt 30720  
tatatagatc gggatcaatc aggaccgtcc atcagatcgg acaactacgg tttctcccgc 30780  
gttgggccgg gtgccactcc taggttgccc aactatttg gccacatgta cgctccgcgt 30840  
gaaataagtt cactttaggt cttttaagtt gcctctgaat tgttcccagg ccggccgcac 30900

tattgggccca ccccataggc catgtgtacg ctccgcacag aataatttcg ctttagctcc 30960  
cttaatttgt cccctcaaac ttctaaaacc agtgcaaadc tttaattttt agttcaccca 31020  
ttgcaactca cgggcatatt tgctagtac atataatatg aaacgaagga tgtagcagac 31080  
tatagaattt aaactgtgct ttcatTTTTag agcatcacta actgttattt agatttttat 31140  
ttaaataaat gcagaaatga tgtttttatt atgaaaatta gcaataaagc tcccaaaatt 31200  
tcaaaaaaaa attaaaagag atttattaat catggttaat ttaattaaaa attaaatcta 31260  
accatatcat attatttcac ggtccgtgat gaggaatgg cagctgctat cacttatggt 31320  
gggagagaag gggcattgtt tatttttata actatctctt ataactccca tgaaactata 31380  
aaataaatat aatcattatc ataacattag tttttttcca ttgcaacgca agggtaattt 31440  
ttcagtacaa taaaaaaata aaagtgggcc attctgaacg gaaatttctg gttttttttc 31500  
ccaagagcgc cgcacacaac tgcgcaagag atcgatcgcg atcacctgc tcgtcgccga 31560  
tctcctacac catccctgcc atctccttcc cctccactgg ctgctgctgc acctgtcagc 31620  
tagggcgggc atggcgcgcc ggcgcgctt ccgcgctgct ggcgccctt gctcggaggg 31680  
ctcgatccaa gggcgagggg gccgcgcggg gggcagtggc ggtggcgcgg aggacgcacg 31740  
ccacgtgttc gacgaattgc tccgtcgtgg cataccagat gtcttctcct acaatattct 31800  
tctcaacggg ctgtgtgatg agaacagaag ccaagaagct ctcgagctac tgcacataat 31860  
ggctgatgat ggaggtgact gccacctga tgttgtgtcg tacagcaccg tcatcaatgg 31920  
cttcttcaag gagggggatc tggacaaaac ttacagtaca tacaatgaaa tgcttgacca 31980  
gaggatttcg ccaaattgtt tgacctaca ctctattatt gctgcgctat gcaaggctca 32040  
aactgtggac aaggccatgg aggtacttac caccatggtt aagagtgggt tcatgcctga 32100  
ttgcatgaca tataatagta ttgtgcatgg gttttgctct tcagggcagc cgaaagaggc 32160  
tattgtattt ctcaaaaaga tgcgcagtga tgggtgtcgaa ccagatgttg ttacttataa 32220  
ctcgctcatg gattatcttt gcaagaacgg aagatgcacg gaagcaagaa agatttttga 32280  
ttctatgacc aagagggggc taaagcctga aattactacc tatggtaccc tgcttcaggg 32340  
gtatgctacc aaaggagccc ttgttgagat gcatggtctc ttggatttga tggtagaaa 32400  
cggatatccac cctaattcatt atgttttcag cattctagta tgtgcatacg ctaaacaaga 32460  
gaaagtagaa gaggcaatgc ttgtgttcag caaaatgagg cagcaaggat tgaatccgaa 32520  
tgcagtgcag tatggagcag ttataggcat actttgcaag tcaggcagag tagaagatgc 32580  
tatgctttat tttagcaga tgatcgatga aggactaagc cctggcaaca ttgtttataa 32640

ctccctaatt catggtttgt gcacctgtaa caaatgggag agagctgaag agttaattct 32700  
 tgaaatgttg gatcgaggca tctgtctgaa cactattttc ttttaattcaa taattgacag 32760  
 tcattgcaaa gaaggagggt ttatagaatc tgaaaaactc tttgacctga tgggtacgtat 32820  
 tgggtgtgaag cccgatatca ttacgtacag tactctcatc gatggatatt gcttggcagg 32880  
 taagatggat gaagcaacga agttacttgc cagcatgggtc tcagttggaa tgaaacctga 32940  
 ttgtgttaca tatagtactt tgattaatgg ctactgtaaa attagcagga tgaaagatgc 33000  
 gttagtctct tttagggaga tggagagcag tgggtgttagt cctgatatta ttacgtataa 33060  
 tataattctg caaggtttat ttcaaaccag aagaactgct gctgcaaaag aactctatgt 33120  
 cgggattacc aaaagtggaa ggcagcttga acttagcaca tacaacataa tccttcattg 33180  
 actttgcaaa aacaaactca ctgatgatgc acttcggatg tttcagaacc tatgtttgat 33240  
 ggatttgaag cttgaggcta ggactttcaa cattatgatt gatgcattgc ttaaagttgg 33300  
 cagaaatgat gaagccaagg atttgtttgt tgctttctcg tctaacggtt tagtgccgaa 33360  
 ttattggacg tacaggttga tggctgaaaa tattatagga caggggttgc tagaagaatt 33420  
 ggatcaactc tttctttcaa tggaggacaa tggctgtact gttgactctg gcatgctaaa 33480  
 tttcattgtt agggaaactgt tgcagagagg tgagataacc agggctggca cttaccttc 33540  
 catgattgat gagaagcact tttccctcga agcatccact gcttccttgt ttatagatct 33600  
 tttgtctggg ggaaaatata aagaatatca tagatttctc cctgaaaaat acaagtcctt 33660  
 tatagaatct ttgagctgct gaagcatttt gcagctttga aattctgtgt tggaattctt 33720  
 ttctcttaca gtccgattag aggagggatc ttctctgtat gtgtaaatag cgaggtatgt 33780  
 atgtcacctc tccgaattat tttgactgtg gttcctggac tgtaacaag ctattatctt 33840  
 ctggtgttga tgccagaaaa aacacaaaag tttgtcgta tctctactaa cggatcataa 33900  
 aggggtttgt aactggagtt tcaaacttaa ggtatctagg cagtaggtat atattgatcc 33960  
 tacatcttat gatcttaaga tgatatacct ctcattatcc tctgctgaaa ctttagcttg 34020  
 aaccgtcatc tacaccacaa tttgagcccc ttagcacaga gcacaacgag caatagcttg 34080  
 cccttacgtt cattatttag catgcactac tactaactac ccaataatca atacatcgggt 34140  
 tattaactg tttgtacagt ttaataatgt cattttatca cgttaacata tgtttcattc 34200  
 aacaccacac cggttttggc acagttgcaa acttgcaata acatttttac tacttctccg 34260  
 ccccataata taacaatctc gttccatact atattgctat attacaggat ggatgaagta 34320  
 cttcttttct tccaaaatat aagaatctag tactagatta gatattattt ggattcacga 34380

atttgattag gctgtctaga tttgtagtcg tatgtaatgt ctaattcggg aataggttat 34440  
tacctctttg gatggaggga gtagttttta tttcgtactc cctccgtttc atattataag 34500  
ttgttttgac ttttttctta gtcaaatttt attgagtttg attaaattta tagaaaaaaa 34560  
ttagcaacat ttaagcacca cattagtttc attaaatgta gcatggaata tatttttata 34620  
atatgtttgt tttttattaa aatgctacta tatttttcta taaatgtagt caaatttaaa 34680  
gaagtttgat tatgaaaaaa tcaaaatgac atataatatg aaactgagga ttagcagac 34740  
tatagcaaat ttaactatg cttttatttt agagcatcac caaaagatta gcaataattt 34800  
atccctaaaa ttcaagtttt gggtttctta aactgaaaat aggaagtga aaatcttttc 34860  
cgtccaagag atagcctaaa tcttatctta actaattaaa atattcataa ttttcctttc 34920  
gtcacattaa attttcgtcc gtaaactctga ttgaaatcca attggacaat ccaaaaaata 34980  
gagaaaaaga acagaaaaaa taataaaaag cacacaaatc ttatctcaat cccgcgggaa 35040  
gctgccgacg ccgccgaatc cgctcgagcg ccgccgccgc cgctcacggg gaacgatgtc 35100  
gctgctgtcg cacgcggtat gggagggcgc cgctgccact gcttgggaga taggatatgg 35160  
agagagaagg aaatgtgagg gttagggtta ggtttttccc cgtccgtatc ttcagcgaca 35220  
cggaggcgat ccaagctgtc catcagatcg gacggctcag aatgcctcca tcgtcgggcc 35280  
gcgcatgctt gatgggccga gggaaggccg gagggctcga caaacgcaat caaaggagga 35340  
gttgaggag gtaaattaga atttatttgc gggctgagat agtaaattga ctgaaaatgg 35400  
cccatagaga aattgggaat tttattttaa taaatgttga aaaggtgttt atattatcaa 35460  
aattaaaaat taagctccga aaattctaaa aaatattcaa agagcattat taatcatggt 35520  
taatttaata aaaattaaat ccaaccatat catattattt cacggcgcgcg ggtaggaaaa 35580  
tgcgagctg ttgtcgttta cgggtgggaga gaaggacat tgtttatttc cagaactatc 35640  
ttttataact cccatggaac tttaaaataa atataatcat tattatagca ttagtttttt 35700  
tctgtctttt tttcccaa gagcgccgcg cagaagagat cgatcgcat ctccctgcc 35760  
cgacgtgcc ggccgatctc tcattctctc cacgccctgc tcgtcgccga tctcctacac 35820  
catccctgcc atctctctct tcccctcccc tctatctctc actggtgccg cccacctctc 35880  
cgtataagac aaactgcgtt gcggcggttg tttccgcggg cgctgctgct gcacctgtca 35940  
gctagggcag gcatggcgcg ccgcgccgct tccgcgctg ttggcgccct tcgctcggac 36000  
ggctcgatcc aaggcgagg aggcgcgcg gggggcagtg gcgccgagga cgcacgccac 36060  
gtgttcgagg aattgctccg gcgtggcagg ggcgccctga tctacggctt gaaccgcgcc 36120

ctgcgcgacg tcgcgcgtca cagccccgcg gccgccgtgt cccgctacaa ccgcatggcc 36180  
 cgagccggcg ccggcaaggt aactcccacc gtgcacacct atggcattct catcggttgc 36240  
 tgctgccgcg cgggccgctt ggacctcggt ttcgcggcct tgggcaatgt cgtcaagaag 36300  
 ggatttagag tggaagccat caccttcaact cctctgctca agggcctctg tgccgacaag 36360  
 aggacgagcg acgcaatgga catagtgtc cgcagaatga ccgagctcag ctgcatgcc 36420  
 gatgttttct cctgcacat tcttctcaag ggtctgtgtg atgagaacag aagccaagaa 36480  
 gctctcgagc tgctgcacat gatggctgat gatcgaggag gaggtagcgc acctgatgtg 36540  
 gtgtcgtata ccaactgtcat caatggcttc ttcaaagagg gggattcaga caaagcttac 36600  
 agtacatacc atgaaatgct tgatcggagg atttcaccag atgttgtgac ttacagctct 36660  
 attattgctg cgttatgcaa gggtaagct atggacaaag ccatggaggt acttaccacg 36720  
 atggttaaga atgggtgcat gcctaattgc atgacatata atagtattct gcatggatat 36780  
 tgctcttcag agcagccgaa agaggctatt ggatttctca aaaagatgcg cagtgatggt 36840  
 gtcgaaccag atgttggttac ttataactcg ctcatggatt atctttgcaa gaacggaaga 36900  
 tccaccgaag ctagaaagat ttttgattct atgaccaaga ggggcctaga gcctgatatt 36960  
 gctacctatt gtaccctgct tcaggggtat gctaccaaag gagcccttgt tgagatgcat 37020  
 gctctcttgg atttgatggt acgaaacggc atccaccctg atcatcatgt attcaacatt 37080  
 ctaatatgtg catacgctaa acaagagaaa gtagatgagg caatgcttgt attcagcaaa 37140  
 atgaggcagc atggattgaa tccgaatgta gtgacgtatg gagcagttat aggcatactt 37200  
 tgcaagtcag gcagtgtaga cgatgctatg ctttattttg agcagatgat cgatgaagga 37260  
 ctaacccta acattattgt gtatacctcc ctaattcata gtctctgtat ctttgacaaa 37320  
 tgggacaagg ctgaagagtt aattcttgaa atgttggatc gaggcattctg tctgaacact 37380  
 attttcttta attcaataat tcacagtcac tgcaaagaag ggagggttat agaacttgaa 37440  
 aaactctttg acctgatggt acgtattggt gtgaagccca atgtcattac gtacagtact 37500  
 ctcatcgatg gatattgctt ggcaggtaag atggatgaag caacgaagtt actctccagc 37560  
 atgttctcag ttggaatgaa acctgattgt gttacatata atactttgat taatggctac 37620  
 tgtagagtta gcaggatgga tgacgcatta gctcttttca aagagatggt gagcagtgg 37680  
 gttagtccta atattattac gtataacata attctgcaag gtttatttca taccagaaga 37740  
 actgctgctg caaaagaact ctatgtcggg attaccaaaa gtggaacgca gcttgaactt 37800  
 agcacatata acataatcct tcatgggctt tgcaaaaaca atctcactga cgaggcactt 37860

cgaatgtttc agaacctatg tttgacggat ttacagctgg agactaggac ttttaacatt 37920  
atgattgggtg cattgcttaa agttggcaga aatgatgaag ccaaggattt gtttgcagct 37980  
ctctcggcta acggtttagt gccagatgtt aggacctaca gtttaatggc agaaaatctt 38040  
atagagcagg ggttgctaga agaattggat gatctatttc tttcaatgga ggagaatggc 38100  
tgtactgcca actcccgcat gctaaattcc attgttagga aactgttaca gaggggtgat 38160  
ataaccaggg ctggcactta cctttccatg attgatgaga agcacttttc cctcgaagca 38220  
tccactgctt ccttggtata gatcttttgt ctgggggaaa atatcaagaa tatcatagat 38280  
ttctccctga aaaatacaag tcctttatag aatctttgag ctgctgaagc attttgcagc 38340  
tttgaaattc tgtgttgga ttcttttctc ctacagtccg attagaggag ggatcttctc 38400  
tgtatgtgta aatagcgagg tatgtatgtc acctctccga attattttga ctgtggttcc 38460  
tggactgtaa acaagctatt atcttctggt gttgatgcca gaaaaaacac aaaagtttgt 38520  
cgttatctct actaacggat cataaagggg tttgtaactg gagtttcaaa ctttaaggtat 38580  
ctaggcagta gttttgacat tagatccaac attgtgtagt attcatttgt gtgtatcaat 38640  
ctatagggtt tcattaaatt tcatttgtgt actgtttagg tgttgaatat attgttttac 38700  
ttgtttttta actgaacaaa agatagctga agctttgttc tttaccaa at gcagtagtga 38760  
tcatcacaat atattttttt acggaacagg agattgtata aaatggtttc catcggcggc 38820  
caacggcgac cgctctgctc tgaccacca cccaatccat ccatccactc gccgccgcc 38880  
ctgatccaag cctccgccgc gcgacagcga cgcaccgccg tcgagaggag gaggcgtgag 38940  
ccccatgggg accctcctcc ggccgcgtaa tgccgctgca cggttaaccac gcgcctctcg 39000  
aggcctccgc cgctagctga tctcttctca tcctgtttgg gtttgggttt gtgatttggg 39060  
tgttttttcc gcagcggtgg tgggtgtggt ggttgccggc ggagggggcg gtggccgcgg 39120  
ccgtggcggtg gagtgccagc tgcatcgggt gcaccgccgc cggggtccgc aggttgtggt 39180  
ggcgacggcg agctgaggag gcggaggag actggtgagg gacacaggca ggcaggctct 39240  
caaggctaag cttgttacag gtactgagac tagttactaa ttactttgat aatcagtata 39300  
aataagcttg tgtagttaa tggcattgtg catttctgca cttgtaaatt ttacagaaga 39360  
tggtcattca atttgaacct gcatctaata ttttagtgggt ttgagtttat tctcccagtc 39420  
acagagtiga agaggcaagt aacctgtaag agaggactga acattaacac ctcttgttcg 39480  
attaaaaatg accaaagagc atcaaacatg tattcgaggc tgttacttta atatggccca 39540  
ttaatttggt tagttggcta tgtacatcct agttggtgca gtgttgtgga aaacggaata 39600



cgggtgtcgg atggacgagg tgccgtcaag cgattaatcg taatacggat gattaaacgg 39660  
aattatatgg atttttggcg ttcgactaa gatgtacata attgatgtta atggcaatgg 39720  
tggagacaaa atgcatcatc ttaataaaaa atatttgtat aaatctctaa ctatattatg 39780  
aaaatgccat ttattagttc aatagatatc aacactgatg gttagtagcg caatagcatt 39840  
gggcttggtta gtcaaaatag tgcagctggg ctgcaagttg caagtttatg ttagtttcat 39900  
aaacagacat ctgatttgtc gataaataac cgactaatcg tgccatacaa ctgtataatt 39960  
actctgaaat agtaatgttg ctccgacttg atgatacggg acggtctggc taccgtttcc 40020  
gttttgacag acgattaaac ggctgtgccg gtcgacttcc acaacactga gttggtgtaa 40080  
atgccagtta ccatttctat gatctaaaat aatcaactct tttagtatat tttcaaaaac 40140  
gaaaattcag tacacatgca tgaatcttaa tcttcatatc tagctcgta caaatcaac 40200  
aaaggcaccg tgcagctgg tgcacattag ctagtctgta cttagcatta tccactagca 40260  
ccttattttc atgcatatca tgctaatttg ctgcccacg ttgagtggga atttttttcc 40320  
atgttttata atttatatat gttctagact tctacttcat gttcctgagc ctctagtatg 40380  
gctggttagca gactaggtgc tgaatgctgt ccttttttgc agactgaaga gaggagaaat 40440  
acaagactgt ccgttgtag tcagatttgt aaaaatagac actgatgtag tttatttttg 40500  
cccctatttt atatttaaca atacaaatat ataacgtatc ctaagaattt atcgtaattt 40560  
aggagaagtt gctcgtttca ttaaattaaa ttgggaagta aaaatgtgtg ctcgagtatg 40620  
tcaatgcaat cctgtgttct tgtttgaaga tatggtgtag ggcaggccag gattgaacac 40680  
tgaatggtaa gactgcttct gctttcagac gttattgcta aatttttagc tagttgcaat 40740  
tagtgctgtc acgccgatta agcagtagaa caaagtaatt ttgtcgtgac aaatgagta 40800  
tatttctttg aaaatcgaag cgaaaacgaa caaaagata gaagaaaagg gaaacttgg 40860  
aattactcca caaagagaac aaatttattg gtaagatttg atatgagatg ctcgattact 40920  
tggcttaagt taacaatatc aaatttgggg aagcaccaaa agaattattg tgacttaagt 40980  
taaagatatc aaatttgggg aagcaccaaa ggaattattg tgatggagtt gtgggtgcat 41040  
aacgttattt gctttgttca aatcctagtg actatgaata tgaatattaa tgcgtaaggt 41100  
aaggaattta ttgttaattt taggttcttt acgatttgtt ccggggacgc cattcggtaa 41160  
ctgtaataat gttttgtatt ggattcactt gtgttacatg cacgcactaa acatgtgctt 41220  
taccttttca tttgtttgtg cgttctgcgt ttgaatttga cgagattcca tggtcagctc 41280  
aacatgtcag ttactgcgtg tcaagcagtt actgcgtgtc aagcgatctt atatggtatg 41340

cgcaacaagcg attgtatacg gatatgacag tataacgtgt gatattgatt tttttatata 41400  
aaaaaatacg atgttacttt ccttcataaa ggaacaaaga cttttttttt aaaaaaaga 41460  
aggggtatta ctaaaaacaa aaatgtcaaa aacaaaatat cagtgcacat ggcaagtgtg 41520  
ctcggcaatt ttttgtctgt actttaaaca aaaatatctt tatatggtat tttttacaag 41580  
ggtgtcacia atatttttaa ttagccaaac atctgcattt tattaaaaac tgtataaatt 41640  
ataatttata ctctaaaagg ttgtgtacat ctctcttggg gaaaatgtat aagttgcgaa 41700  
caaacattaa tccacgttat ataagtcaat ctggtattta accatagaaa gtaagaaacc 41760  
tactagcgtg ttaagctaag ctctctttca ttctctttct tcttcctggt tttgcttcaa 41820  
tcacttgtca agtgaagggt tcttaactac cattactcct actcaccaaa tttttttctc 41880  
agatctttcg taggtatata ttgatcctac atcttatgat cttaagatga tctccttctc 41940  
attatcctct gctgaaactt tagcttgaac cgtcatctac accacaattt gagcccccta 42000  
gcacagagca caacgagcaa tagcttgccc ttacgttcat tatttagcat gcactactac 42060  
taactacca ataataata catcgggtat taaactgttt gtacagtta ataatgtcat 42120  
tttatcacgt taacatatgt ttcatcaca accacaccgg ttttggcaca gttgcaaact 42180  
tgcaataaca tttttactac ttctccaccc cataatataa caatctcgtt ccatactaga 42240  
ttgctatatt acgggacgga tgaagtactt ctttccttcc aaaatataag aatatagtac 42300  
tagattagat attatttggg ttacagaatt tgattaggct atctagattt gtagtcgtac 42360  
gtaatgtcta attcggtaat aggttattac ctctttggat ggaggaggta gtttttattt 42420  
cgtactccct ccgtttcata ttataagttg ttttgacttt tttcttagtc aaattttatt 42480  
gagtttgact aaatttatag aaaaaaatta gcaacattta agcaccacat tagtttcatt 42540  
aaatgtagca tggaatatat ttttataata tgtttgtttt tttattaaaa tgctactata 42600  
tttttctata aatgtagcca aatttaaaga agtttgatta cgaaaaaaaa tcaaaatgac 42660  
atataatatg aaactgagga tgtagcagac tatagcaaat ttaaactatg cttttatttt 42720  
agagcatcac caaaagatta gcaataattt atccctaaaa ttcaagtttt gggtttctta 42780  
aactgaaaat aggaagtga aaatcttttc cgtccaagag atagcctaaa tcttatctta 42840  
actaattaaa atattcataa ttttcctttc gtcacattaa attttcgtcc gtaaatecca 42900  
ttgaaatcca attggacaat ccaaaaaata gagaaaaaga acagaaaaaa taataaaaag 42960  
cacacaaatc ttatctcaat cccgcgggaa gctgccgacg ccgccgaatc cgctcgagcg 43020  
ccgccgccgc cgccgccgct cacggggaac gatgtcgtg ctgtcgcacg cggatatggga 43080

gggcgccgcc gccgctgctt gggagatagg atatggagag agaaggaaat gtgagggagg 43140  
 gttaggtttt tccccatccg tatcttcagc gacacggagg cgatccaagc tgtccatcag 43200  
 atcggacggc tcagaacgcc tccatcgtca ggccgcgcgt gcttgatggg ccgaggggaag 43260  
 gccggagggt cgaacaaacg cagtcagagg aggagttgga ggaggtaaag tagaatttat 43320  
 ttgcgggctg agatagtaaa tggactgaaa atggcccata gagaaattgg gaattttatt 43380  
 taaataaatg ttgaaaaggt gtttatatta tcaaaattag aaattaagct ccgaaaattt 43440  
 taaaaaatat tcaagagca ttattaatca tgattaattt aataaaaatt aaatccaacc 43500  
 atatcatatt atttcacggc gcacggtagg aaaatgcgca gctgttgtcg ctgacggtagg 43560  
 gagagaaggg acattgttta ttccagaac tatcttttat aactcccatg gaactttaaa 43620  
 ataaatataa tcattattat agcattagtt ttttctgtc tttttttcc ccaagagcgc 43680  
 cgcgacagaag agatcgatcg cgatctcct gccccgacgt cgccggccga tctctcattc 43740  
 tctccacgcc ctgctcgtcg ccgatctcct acaccatccc tgccatctcc tccttcccct 43800  
 cccctctatc ctccactggt gccgcccacc tctccgtata agacaaactg cgttgcggcg 43860  
 ttggtttccg ccggcgctgc tgctgcacct gtcagctagg gcgggcatgg cgcgccgcgc 43920  
 cgcttcccgc gctgttggcg cccttcgctc ggacggctcg atccaagggc gaggaggccg 43980  
 cgcggggggc agtggcgccg aggacgcacg ccacgtgttc gacgaattgc tccgccgtgg 44040  
 caggggcgcc tcgatctacg gcttgaaccg cgccctcgcc gacgtcgcgc gtgacagccc 44100  
 cgcgccgcgc gtgtcccgt acaaccgcat ggcccgagcc ggcgccgacg aggtaactcc 44160  
 cgacttgtgc acctacggca ttctcatcgg ttgctgctgc cgcgcgggcc gcttggacct 44220  
 cggtttcgcg gccttgggca atgtcattaa gaagggattt agagtggacg ccatcgcctt 44280  
 cactcctctg ctcaagggcc tctgtgccga caagaggacg agcgacgcaa tggacatagt 44340  
 gctccgcaga atgaccgagc tcggctgcat accaaatgtc ttctctaca atattcttct 44400  
 caaggggctg tgtgatgaga acagaagcca agaagctctc gagctgctgc acatgatggc 44460  
 tgatgatcga ggaggaggta gccacactga tgtggtgtcg tataccactg tcatcaatgg 44520  
 cttcttcaaa gagggggatt cagacaaagc ttacagtaca taccatgaaa tgctggaccg 44580  
 ggggatttta cctgatgttg tgacctaaa ctctattatt gctgcgttat gcaaggctca 44640  
 agctatggac aaagccatgg aggtacttaa caccatggtt aagaatggtg tcatgcctga 44700  
 ttgcatgaca tataatagta ttctgcatgg atattgctct tcagggcagc cgaaagaggc 44760  
 tattggattt ctcaaaaaga tgcgcagtga tgggtgtcgaa ccagatgttg ttacttatag 44820

cttgcctcatg gattatcttt gcaagaacgg aagatgcatg gaagctagaa agatttttcga 44880  
ttctatgacc aagagggggcc taaagcctga aattactacc tatggtaccc tgcttcaggg 44940  
gtatgctacc aaaggagccc ttgttgagat gcatgggtctc ttggatttga tggtagcaaa 45000  
cggatatccac cctgatcatt atgttttcag cattctaata tgtgcatacg ctaaacaagg 45060  
gaaagtagat caggcaatgc ttgtgttcag caaatgagg cagcaaggat tgaatccgaa 45120  
tgcagtgcag tatggagcag ttatagggcat actttgcaag tcaggcagag tagaagatgc 45180  
tatgctttat tttgagcaga tgatcgatga aggactaagc cctggcaaca ttgtttataa 45240  
ctccctaatt catggtttgt gcacctgtaa caaatgggag agggctgaag agttaattct 45300  
tgaaatgttg gatcgaggca tctgtctgaa cactattttc ttttaattcaa taattgacag 45360  
tcattgcaaa gaagggaggg ttatagaatc tgaaaaactc tttgagctga tggtagctat 45420  
tgggtgtgaag cccaatgtca ttacctacaa tactcttate aatggatatt gcttggcagg 45480  
taagatggat gaagcaatga agttactttc tggcatggtc tcagttgggt tgaaacctaa 45540  
tactgttact tatagcactt tgattaatgg ctactgcaaa attagtagga tggaagacgc 45600  
gttagttctt ttttaaggaga tggagagcag tgggtttagt cctgatatta ttacgtataa 45660  
cataattctg caaggtttat ttcaaaccag aagaactgct gctgcaaaag aactctatgt 45720  
taggattacc gaaagtggaa cgcagattga acttagcaca tacaacataa tccttcatgg 45780  
actttgcaaa aacaaactca ctgatgatgc acttcagatg tttcagaacc tatgtttgat 45840  
ggatttgaag cttgaggcta ggactttcaa cattatgatt gatgcattgc ttaaagttgg 45900  
cagaaatgat gaagccaagg atttgtttgt tgctttctcg tctaacgggt tagtgccgaa 45960  
ttattggacg tacaggttga tggctgaaaa tattatagga caggggttgc tagaagaatt 46020  
ggatcaactc tttctttcaa tggaggacaa tggctgtact gttgactctg gcatgctaaa 46080  
tttcattgtt agggaaactgt tgcagagagg tgagataacc agggctggca cttaccttctc 46140  
catgattgat gagaagcact tttccctcga agcatccact gcttccttgt ttatagatct 46200  
tttgtctggg ggaaaatatc aagaatatta taggtttctc cctgaaaaat acaagtcctt 46260  
tatagaatct ttgagctgct gaagcatttt gcagctttga aattctgtgt tggaattctt 46320  
ttctcctaca gtcctattag aggagggatc ttctctgtat gtgtaaatac cgaggtatgt 46380  
atgccacctc tccgaattat ttttactgtg gttcctagac tgtaaacaag caattatgtt 46440  
atgctgttga tgccagaaaa aacataaaag tttgtcgtta tctctactaa cggatcataa 46500  
agggatttgt gactggagtt tcaaacttaa tgtgtctagg cagtaatttt gacattagat 46560

ccaaaacaat ttatagggtt tcattaaatt tcatctatgt gtactgttta ggtgttgaat 46620  
agtttgactt gttttttaac tgaacaaaag atatgtctga agctttgttc ttaccacaaat 46680  
gcagtactga tcatcacaat atatttttta tggaacaaga ttggattgta tagaatgggt 46740  
tctgatctga ttatcttate tcaacgtatt attatgcaca tgtactaatc atgaaatate 46800  
tgatggaatg atgtttctat ttacctgtgt gaggcagcaa ggagtgagat ggataacacc 46860  
acatactccc tctgtcccag aatataagaa gtttagagt tggacacgat tattaagaaa 46920  
gtaggtagaa gtgagtagtg gagggttgtg attgcatgag tagtggaggt aggtgggaaa 46980  
agtgaatggt ggagggttgt gattggttgg gaagagaatg ttggtagaga agttgttata 47040  
ttttggggag tacattatta ttctagaaca atactgttgt gctcaagaag cgttccaaag 47100  
atgtttcaca acctgtgctc gatgggtttt gagcttaate ctgggacatt cagtatcatg 47160  
atctgtctca ttcttaaaca tggaataaag gatgacagca tgatttcttt gtctctataa 47220  
tcttttggct acccacagat aatagctgta aatctatact actttaaaag gagtagtggt 47280  
ggtggtgagt ggtgaatctg ccaccacccc accaccaact ctcaaaattc tgacatgtgg 47340  
gatcactgtc aatcccttct ccaagacatg tgggatcact gtcaatccct tctccaaacc 47400  
aattgtatga tagaacagtg gaaatcacgg acagaccatg gagctctcaa ccataatcat 47460  
ccttgcgagt taataacaaa tggagcgtaa acttggcaag caaaaaactc aaattaattc 47520  
taaaattaag ctctaggatt caaaatagat ttctctctg cattgtgctg ttatgatttt 47580  
taattccgta acaacgcaaa tgcattttgc tagtcttata aagaagggtt aatgcaaata 47640  
ttctgattaa atgattgtat ctatgaagtt tgaatgctag tggaagctcc ttigaccatg 47700  
ttttgttgtg cgagcattta agagagtga gagaatgctt ctttgggtgct gttcttggtat 47760  
ggaaggatcc acagataaaa ttcaggttct actgcttctc tgcttgtaat ttcatgaag 47820  
ctgcagtga taccttgttg accacttgat ctgttgcttt gaaggagaat atagtagtgg 47880  
ccaaggttgg tgacggtgat ggtggcatgt gatccccag atcttcagt acccagagag 47940  
gaggggacgg cgcgtggtga gctacaaggc atactcagt gagggcaaga tcaaggcctc 48000  
ccgtccgtag gggactccgc tgcataagg ccaactgctc cgaactgac aatttctggt 48060  
acggatcact tctcctttcc tttttttttt caccttaagc actctcttga ttcttcgctg 48120  
ctacctccct taatttcttt caatatattg tggcacttga tcatggcgga gaccacctt 48180  
ccagtgtgaa tggattttgt caaagaacta aatttattcc attagcttat ttccgatta 48240  
catggaagac attcttttct ggaataaata cagaactaaa tctgtttcc tgaataaaaag 48300

ttgttagtgt gtggcatggt gcatttccgc gcttctaaat ttataaaac ctgttcattc 48360  
aatttgaacc tgcattcaat ccaatatatt aggtgcagac aggtgcttgc ggtcaggtaa 48420  
aagaagttgg caaaaatgct tctgaagaaa ggtaattgt tgtttcatct caggaggtaa 48480  
tatgcagatg attattccaa ttggcatigc cttgccattt ttatcacgag tctttacaat 48540  
tttatatcct cctacatatt ctttcagat tccagatgat ccagtgtctc caacaattga 48600  
ggcgcttatt ttgctccata gtaaagtaag tacacttgct gagaaccacc agttgacaac 48660  
acggcttggt gtacatcaa acaaagttgg ttgtattctt ggggaagggtg gaaaggtaat 48720  
tactgaaatg agaagacgga ctggggctga aatccgagtc tactcaaaag cagataaacc 48780  
taagtacctg tcttttgatg aggagcttgt gcaggtaatt tatttgcca tacctacacc 48840  
agagatccat atattacttt tataactgca gtttttactt gttaacattt cattgtgctt 48900  
ttacatttgt tccaagcttt caggttgctg ggcttcagc tattgaaaga ggagccctga 48960  
cagagattgc ttcgaggctt tgaactagga cactcagaga tggaagttct tccaataatc 49020  
cgacaccttt tgcccctgtt gatggctctc ctgttgatat cttgcctaac aaggaattca 49080  
tgctatatgg acgatctgct aatagtcccc catatggagg gcctgctaata gatccaccat 49140  
atggaagacc tgccattgat ccaccatatg gaagaccaat atccacaata tggaagacct 49200  
gccaatgac caccatatag aagacctgtc aatgatacat catattgagg gttgaacaat 49260  
gatgggcctc gtgatcaggc ccggtcctga ggggggtcga atggggcgat cgctccgggc 49320  
ccccgattc ccagggcccc cacctatctg tgcaacgagt agtagcgatc ttccagcgcg 49380  
caacgtgagg cgatgtttct ccgtgatttc gccggcctgc aactgcgaga tcgagagtat 49440  
aacgatcagc cgatcgatct catctgccga ctgccatgct gatgccacac gcaagcgag 49500  
catatcagcc ttatcttggt tgatcggcat gctggacgag cacatctgtt gtcgcatcaa 49560  
ctgctgactg ctatatatgt gctggtgctg aatcgatcga ttgtcgtcac ggaagtgaag 49620  
aacaaccag gcactgctgc ctgctgggct ctagccgcca tcagtaagta cgctatactg 49680  
cctatctaga tctagatcga gattacatag tggaattatc tgtttataac aaaattacaa 49740  
ggtatcaatt gataatttaa ggttataacc gtacaaactt cagtgatttg ctggtttcac 49800  
attggttaga ttgtttcaa ctaatttggt acttctgtag ctttgtaatt tacgaatcta 49860  
gtattaatat ttcttaagt attagcctgt tccttgatat tatgctgttg agaaagtatg 49920  
caatagataa caaaaacaag taggtgtgtt gaggatgctc aagagtaata caggcacttc 49980  
aataattctg atattatcag gacatcatca ataattctgc gcctacaaat cttcaaagaa 50040

aattttaata taatgcgtat gattttttaa atacgaatat tgattgctat ttaaagatat 50100  
ttatattata tggtaattat tatttgaagg ttataataa aggcctccgt ttttagtttc 50160  
acgctgggcc ttcagaatct caggaccggc cctgctcatg atccttacac cgtgtatcct 50220  
gtagagtact tctctaaaag agagtaccct agtggaaagta gcaaagtgc accatctgct 50280  
tcatacgaaa gatatgcagc aactactcgc ttgcctaata gagaactgcc ctcatctatt 50340  
agtcctgggtg ccgattatat gtcctgccgt tcttatcttg accaagtacc tactgatagg 50400  
tactctaata gggttacact acaattaggc ctcttgagag ccgggaatag taatgtgcaa 50460  
caattaggaa tcaccagagc tggaaattcc aatgcttatg attatactga ggtacatttc 50520  
caatgcgta gcttgcctct tctttgcaaa tggccctcgc ctgatatgtt tccattagaa 50580  
acatgaaacc atatatttga ctgttgcatt atgtctatct tcttccatga tggttcagac 50640  
gtctgaaaaa aggacaaaaa tattctagaa tatgtcatgg tgatccaaat atatccttct 50700  
gtcttgtgcc cactctaata tctatcgttg gtaacactat tcaattgtta ccatgttggt 50760  
gcaaacccta gattcagtta ttcagctgtt ctctgctgct gttgcttacc agttttctta 50820  
gttgggtgtt gatcttttct cattttttat ttccttgttt cctgggtcac ctgctgcctc 50880  
tctgatgcat ctgaatgtat atttttgttc tcttcagtgc ttaatagatt taaatttcat 50940  
tcttttcagg ctgcggagct gatccatgga cgtgaggatt accgaagact gtcaggcttc 51000  
actgggtatg gcttacgcag actgaatttt tacaggacac aaacatgaat tttgtcctca 51060  
taatcattga gtgatgatct ctttgcaggt atccagggtg ctctgtcgaa ttgtggattc 51120  
caaatagtta actggagtct gtcattgggt ttgggtggtgt caatctagct gagatccgtc 51180  
tggtatagcg taagagaaac atcatgcact atccccagtc ataaccatgc ccaatggcc 51240  
accaatagtt ttcctcgtga aaatctcccc ttgatccag atctctggtg cgagagtga 51300  
gttgcacgaa gccatcctg gttcttccga gtccattgtg gagatccagg gcattccgga 51360  
tcaagtgaag gccgcacaga gccttctgca aggccttcac ggcgcaagca gcaacagcag 51420  
gcaggcgccc cagtcctctc gcatggccca ttatttttag taagctggag gacattcgca 51480  
acaggggggt cagtggtcac tgcaaagctg agtttgttct tcagttcaac tgcagaaaat 51540  
tgcagatcgg ttgccgtagt tgctagaacg gtacatagtt gccacctaac tgtagcgagt 51600  
ggcataactt attgtgtgtt actgcccaat gttgtctctc cttgtgttca tggattcaga 51660  
cttgtgattg tagtatttct ggatcagact ggagtaaaag aaaaaaaaaa aggaagacat 51720  
gggtttaaca gtaagctcaa aacgttgaca gtagtaaaat aaaaggggtt tgttcacttt 51780

atttccaata tcaaccttac caacatttgg cgttgaatca tttataccac atcgcttgtg 51840  
cagctgaatt tggggctgtt taaaagatgg tctcttggat tgctaattgc ctgcggcaa 51900  
gcgtggtacc ttgtacaata taaatataat tataactatt taatttcata attaaacatg 51960  
ttgtacaaa tctctactat tataaaaatt gaagatgttt ttgcccgtta ttttggtagc 52020  
tcatctgtgt atgaatccgt ttttaagttc gtttgctttt ggaaatacat atctgtattt 52080  
gattcagttt ataagatcgt tcacttttgg taatacagaa ggaatcatat aagaattctg 52140  
tttaaaaaca ctgcgtatagt aacttgagac gatcagacgc ctaactacag ctcatgattt 52200  
tctaaatata tatatatata tatatatata tactagaaaa aatataatgtg tgtaaaaagc 52260  
tatcttaatc ttattattgt tatatatatt agttaacaag aaatctattg tgggaacttg 52320  
tttgatata tttttttta aaaaaaatca tgagctgcaa ttaggaatcc aatcgtctca 52380  
agtttagcagg agggcgagtt tttttaaga gatttcttat acgatttctt ctatatttct 52440  
aaaagcaaac gaacttaaaa accgactcaa acatggatct gtatttccaa aaacgaataa 52500  
acttaaaaac cgactcatgc acagatgatt aatttttata atagtagaga taaacgaact 52560  
cccacagtga attttatttt aactgaacca tataacaata ataagattaa aatagacttc 52620  
accggttgca atgcacgggc attttttcta gttaaagaag aaataaaaaa acacaaaaat 52680  
ttataaaatg taaaaaagaa aaatattata attttgttag aattattatt ataatataga 52740  
aaaatagttg ccaaatttc tcaacgaatg tcgaataaac tcagcaatgt catatattta 52800  
aatatgatgg taatatttgt tcgcaaaact ttaatcttca atccttcaac aacatagata 52860  
tacaacgtcg taatcgcaa caagcccgag tgaccataca ggatagccga gcggtggatc 52920  
tgtactgttc ttgggtgaaa taaatctagt acattgtata tcttatctta atatctacta 52980  
ttataaaaat tgaagatatt tcttcaaaga tttccatacg ttctctactc cgttacaata 53040  
tcggttctac tccgttacaa tatcggtttt gtacaccccg cgcacgcgtt gtgtgttctc 53100  
ccgttccaat acatgaagct agagtcttgc ttctccctgg tctggcaggc cttttttcca 53160  
ccatccccac cagggccagc gggttacatt gaccgatcac ggcccacatt agtggatgca 53220  
gccagccagc ctcttcacaa atcatgtgat gaacattagc tgagttaaaa tttatccttt 53280  
gatgattgtt agaaatgttt ttttctccac atcttctctt tcaattttgg aaaaatagat 53340  
ttcttgattt ttgtgctcgt acatcactaa taaatcagtt gttacccttc cacacattgt 53400  
caatttacca tgtctatttc agctcttacc ttgtatagtc ttgactcttg agtcctcgct 53460  
attgactaag ttgctacatg cctcctacaa atcaatagac tgccataaca atattttcta 53520



cgacatgac catattagtc catgcaatgc aagtacacac acactactgc acgaaaaaac 53580  
 tatgcacat aacttcaaaa ctaacatgtt agaatgacgt taatttttca ttacaattat 53640  
 attcatcgac cgtaaattta ctaggcatcc tgtttaaaaa aaatattcac cgaccatacc 53700  
 cacatgttcc gtagttcatt aggtgatgga tcggtagtta cagcagctgg atttttatat 53760  
 tttggtcatt ttgaaaaatt tatttcgcaa atagactcct gaaaaaactt atcccagaaa 53820  
 tagtcccttt tggagcgtca gagtggctgg cgccgtggtc caacgggaca gcgccaacct 53880  
 ctctggcgcc gcccccgcc tctattcttg tttctctata tagagttgca aactttttat 53940  
 ttttgtttta ttttttggga tgttttttca ctcttagaat cagatacaa ccaactacaa 54000  
 aaaaaattaa actcgaacgg aatatacac ttagctagaa gtctgaaaat atagcatacc 54060  
 acttatctac ttgacacctt caccaaaatt agaccataac ttcttttagta aaatcctttg 54120  
 atcagcatat taaacataat gcactctatc actaggtgaa attacttaat ctaattcaaa 54180  
 atataactac atgtagcctt gaaaaattct acatgccaca tatttcgtcc gtttgagttt 54240  
 attattttta tggttcgttc atgtgagttc ccaagtgtga aaaaaaaata aaataaaaaat 54300  
 aaaaaagttg cacatcctct cctctgcatt agagaggaga ggagaggaaa aattctacag 54360  
 gtcacatatt tcgtccattt gagttcattt tttctatggt tggttcttgt gtgttcctaa 54420  
 gcgtgaaaaa aatatcaaaa aaataataat aaataaaaaa attcgggggg gggggcgcc 54480  
 agccactctt aggggtgaaa acgatcggat aatatccgat ccaatctgct ccgaatccat 54540  
 ccgaaataag gatatggtat gggtttttag aaatctggcg gatatggatg cggatgagga 54600  
 tatggtatct ccgaaatacg acggattatc cgacattttt gtcggattat ccgataggcc 54660  
 ctttaccgga taatccgaaa ttatgaacac atgtaaccac tctatctatt gcatataaca 54720  
 taagttggtc catccaatga cctaattcat caattaccct agatttctta ctatgtggtt 54780  
 ttcaccattt catgtcacac ttgcgtagct gtatttttat aaaatggaca tcatgtattt 54840  
 atgttggtta gcacttaagc acataattat tacaatgggt cgtttattga cattgtgtta 54900  
 ttttacttg cattgctaac tcaatgttgt attgattgca tacacacgta acatctgata 54960  
 aaatttaatc cgtttctgaa ccgattccgc accatttccg acatctgcat ccgtacacta 55020  
 tccacacca ctccgaatcc gcttaaaaat atggtttagg atatggtatg accactatcc 55080  
 gtccgaatcc gctttatttt caccctagc cactctggcg cgcttcccct gccacctcag 55140  
 catcgtccca ccacgtcggc agaaggacgg cggctccagc cactctggcg ccacaaaaaa 55200  
 ggaccatttc tagcataagt ttttttaggg gtctatttac gaaataagtt tttaaaagga 55260

ccaaaatgtg aaaaatccag gttacagcag actgtgataa gcaatagcta tattgcctat 55320  
atatacacgt atatgcattg ctaatecttc aattttgtcc aattctttta aattgtcttc 55380  
acctgttgca acgcatgatt ttttttctag tcttaacctt aactaatctt aataactaac 55440  
taaaagattc gtatcttttc gatcgtcacc ttgtccatac gctaattttt cgtccgtccc 55500  
ccctccccct caaaaaaaaaa gggaaaaatc cattttacac cctcgaactc ttatgcttgt 55560  
ctaaaataca cccccgaact ataaaaccgg gtataataca ccctcgagct atcaataccg 55620  
gacagttcaa ggggtgtatta tacctggttt tgtagtttgg ggggtgtattt tagataagca 55680  
taagagttca agggcgtaaa tggacttttc cccaaaaaaa atcccagtcg ttactttcca 55740  
tcctgagaat cggagacagg gaaaactgaa gcatacacgc aaatagaatc aaagataggg 55800  
aaaactaagc atatacacac aaatatatcc aaaaattccc atgcagctag atcgggtgcc 55860  
accgttggtg ccaaaccacc acattgcaat gtaaatctaa gactaaagcc taaatcctat 55920  
gctaagtcac caaattagac tcggttctac caatttggtg atatatcaaa ttagacttga 55980  
tttttactga tttgaggttc tcgaggtgtc acactatgaa acggaagttt ttcccgttgc 56040  
aacgcacggg cactatgcaa tatcttaact aattaaaaga ttcataattt tcctttcgtc 56100  
acaccgatct ttcgtccgtc tgtaacatca cgtgcacctc ctctccaaat cccacatcat 56160  
cataatccga cccaaaaaca aaatctcaat ctcaatccaa tcagaatcat cacaaaatca 56220  
tccaaaatat caagagatga ttataggaga tggaggggtg agcaggagca acatcatcat 56280  
cgcataaaaa ccccaaaatc aatcacaaca acgacatcat tatcacataa gaaaaacaat 56340  
acaaacaaca tacacaatca acaacactgg cggatccagc cgaggggaca acggcgtggc 56400  
agcgggcaga tcctctcggt cagatccgcc cacgggtgcc actgacgtcg ccgccgccac 56460  
cggatccaag ggagaagctt cggacagagg gagagggggg tagaggaccg cttaatccgc 56520  
ccaccggaaa tgccgccgcc accacctcg tcggatttgc ccgagggagc gccgatgccg 56580  
ccaccgccat cgcgggagaa gcttgggcac ggagggtgag gagggggggg ggtagagaat 56640  
cgccggatcc atccgctgga aaagcctccg ccggatccgc ctgccgaaa caccggtgtc 56700  
gccgcctccg ccggattcgg tagcgggagc cgccgatgcc accaccgccg ccggatccgg 56760  
tcggtgggag cactgacac catgccgcc gcctcctctg ctaccgacaa gggagagacg 56820  
agaggggcgg gggcgagggc gggggacgag agggttagag ggagggaccg agtgggagag 56880  
agagggacga gtgagaggag ggggacgagt gaataaggat gcgtgacctt atccactcgc 56940  
gcggtcgcac cccggctctt tctctcgctc agctgttgcg cttgtggaga ggatgcgaga 57000

tttttttttg agtaaaatgc acgggcggtc cttaaacttg tagcggctctg tcattctaggt 57060  
tcccaaactc tcaaaatgca tatccaggtc ctagaatttg tcaaagtgtg tcattctagat 57120  
cccaaaccga cacatcctct cttggatcct acatggcgct aatgtgactt gtcacatgga 57180  
cgtgacacgt cttttttttt cttcttttct ttttcttttc cgttttcttc tcattcttct 57240  
ttttttccat cttctgctcg ggtcacatag aaaggaaaag aaaggaaaat acaagagaag 57300  
aaaaaaagaa aaaagaaaat ttttaaattg gtctcattcg tcagtcaaaa ttatgccaca 57360  
tcattgtccct gcgacatgcc acatcagcac cacgtagcat cctgaagggg ttgtggcgat 57420  
ttgggaccta aatgacacac tatgacaagt tctaggactt ggatatgtat ttgagagtt 57480  
taaggattta tatgacacac tactataagt ttaaggaccg cccatgccct ttactttttt 57540  
tttttacacg gagagaatgc gaatttggtg gttagttgcg gctgagggtt tctcgcacgg 57600  
agaaatttgc ggtgggagaa ttttttttcg aggttcttct tattgggaga agacgggatt 57660  
atagggatta ttactggtgt ggtggcccct gtttcttctc ttttctgagc ttctttccgt 57720  
taaattcact tttctctctt caaggagcgt aggacatgac tgaatgcagc tgctgtaaat 57780  
tagaaataaa aaagaaacat attctgtttt tcattttttt caataggtaa atataaagat 57840  
ttttaagtaa tatttaaaaa tatatagtgc tgatcaacga cattgttaag tgagattttg 57900  
ctgttactat cacttttttt tccattgggc tcacgtacgg cattaaaagt tttagttttg 57960  
gttctctcct tttgagtttg ggcataatcc aatattgaga taggtatact aaagttcatt 58020  
tggattttat tcgattcaac ttttttgggt tttgttcagt tcttttttac atgtttctca 58080  
tctgaaatta ggaaattagg tttggtaaag tcttgaatag ataacgctgt tgacgtttga 58140  
acatatattt atctatttat ttatttaaaa atatatgaat aatttttatt ttgttatgac 58200  
ttttgtcggg gacatgggac cgggagtatc atgactagag gcttgggcag gagcgatcac 58260  
ccacgtggcc tgatgtaaca tcctgaaaat tcccaacaat aaaaatcact aaaattttga 58320  
actttttaaa acttttgcac catgctgggt gttatgattg ctattgcttg ccaaaccgta 58380  
aatgatcaca aagaaagtaa agtaaggatc taaaatttaa gtaatagata aatttacgag 58440  
aatataatat ttaattgcta accctacaaa taattacgca caagaaaaca aagccagaca 58500  
aacggaaggt taattactaa tttaaattat ggattaatta ttaaatactt gaaccatgtg 58560  
ttgcgtgcca tggcatctaa atacacatga aataatggtc atataattaa attaagcttt 58620  
ataaaattat gtgaggtttt aattaagcaa ttagcttaat gttgtaccga gtcttaatat 58680  
actattttata gaataaataa attcaacctt tccgtgtaaa atatattgct ataagttcat 58740

tcaatgtact attgtaataa taatggccac attaggatat ttttaattaat tttggaaccc 58800  
 tcaaagcctc caaaattatc taggttaatt ttgaaattat acctcatitaa agtaatgcaa 58860  
 tagaaaaata tacataaaaa taaaatatgg gtaatatag aaattgagta aattttcatc 58920  
 taaattaaaa catatatgg gtaaaccctcc tttatgtaaa aattaagatt tatagaatga 58980  
 aatttgtaca aggataaac taaaatcggg ttaaataga aatggcactg ttcattgcac 59040  
 tctaggtgct cgacgtggtc cctggcccta ttttccccct cagccgcgcg cgccgtgctg 59100  
 cctcgcgccc cgcgccacgc caccgcgctc gcgtcgccgc tgccgcgccc tgccgtcgg 59160  
 ccgttcgcg cgctcgtcc gtcgtccgc cgctcgcgc ccgcgcgccc gtcgtcatcg 59220  
 cgtcgcccgc gccatcacgc cgctggccg cccctgaccc cgcgccgcgc cgcgccgtcc 59280  
 cgtagccgcg tgcgcgttcc atcgccgtg ccgcgcgccc cgccgtcacc gcgcgcccgt 59340  
 cgtccgcccgc gcatagcccc gcgcgcccgc gccatcgtgt cgccgcgccc tgctgctgct 59400  
 ctcgagcccc gcatccctct cgagccccgc acgtcgcgtc ttgtcgccgt tgctgcccgc 59460  
 tcgtcgtcgc cgatcgtgtc gcgtcgcccgc tgccgcccgt cgctcgcct tgccgcccgt 59520  
 gccgcccgtg ccgcgttgtc gctgtcacct tcgcgtcccg cctcgtgccg cgcgccaccg 59580  
 ctgcccggcc gtcacgccc gtcgtcgcg cgcgccgccc ccgctgccgc gccgtcacgc 59640  
 tcgtgtgcc gtcggcctcg cgcttgagc cgccgcgccc ccgtccccct gcgcctgcgc 59700  
 cccgcccgcac ggccgtcccc tcgcccgtgc cctgcgccac tgccgcgccc ccgtcccat 59760  
 cgcgccgagc ccggtgccgc cgcgcgctc gcgtgcccc gcctgtcacg ccgctcggc 59820  
 cctcgagcca cacgcgtgc gccgtcgcgt cgccattagg gccggccacc ctttccccg 59880  
 cgccctataa aacccccgg ccacccccct ttcacccac accatccca cccattcccc 59940  
 tcttctctc ctcttcccc tcttctccc ctccaccgc cgcgccgccc gccttcgtgc 60000  
 cgccgcgccc tgccggtcg tcgcgcccgc ctgcgcccgc cgaccgccc cttcgtgcc 60060  
 gccgcgcccgt gcgcccacgt cgtgccgccc tcgcccgtgc cgtcgtcgtg ccgcccgtgc 60120  
 cgtcggcgtc gtcggtaagc cgccgtccct tccctcgttc cgacgcccgc gccgcccggg 60180  
 tgggaaggag ccgagagaga gaggaggaa ggagccggga gtaggaagaa agaaaagaaa 60240  
 agagagagag agaaaagaaa agagaagaaa agagaaaaga gagaaaagaa aagaaaagag 60300  
 attagagaag ggagggaaga gtgggcccc cctgtcatta gcccaccca attccccta 60360  
 gaaaaataat tctgtagaaa agaaaatcaa gatcttgacc ccacctgtca gtcactatag 60420  
 cgtgtggata aggttgtatt aaaaataaat gaattaggaa cagtactatt tcgcaactat 60480

tagaattaat tcaaatttga atctttacac tagcataact aattcatttt agctccgatt 60540  
tgagtggaaac ttgaacctaa attcatctaa attcataagc tttccaatgg tatataattt 60600  
actattaaat aaaatatatt tataattatt aagtaattaa tatcatatga ttaggttatg 60660  
gtcaacttaa aaatatgcta ataaataaaa ttagtattgt ggatgtaata atatttgtct 60720  
ctaacatgtc ttgccactgt aacaaccaca caaactaata ttaagtgatg tctgaaatga 60780  
atgaatgaat aggaaaatac tagtacttgt ttaatatctg atagccatat aattaaaccc 60840  
atggcttata ggttatttaa atcaaagtga gccttgtgat tatgcaacta aaatataaac 60900  
acatatagat gaatcttttag cttgattagg aggaataata acagagctag tgtgactagt 60960  
tatgatatag cttgttgtcg gttgcctata tttagtaaag ggttcaatgt taatacactg 61020  
atgcacacac ataccctttt tgataacctc ctagttgcat atattaaact tggtaataaa 61080  
tgaagaacca atatattagc taaatactgg tgctagttag aaatcttgac cacacataat 61140  
tttagttcaa accacacctg aggattgttc gttataaagt tataaagtta taaagttata 61200  
caaaagataa tatgtaacta taatagtatt aaaccacaaa tctaaaatac agggcgcata 61260  
attgtcaacc ttttatgcaa acggataata tccatatata tacatcatgt ggataattcg 61320  
aataatagct ccattggtaa aataataatg taggcgaatc atgggtgatga gatggtttat 61380  
cctaaacctc cccatcgaca tagccatgct atagggacct gaccatttta ccttcataac 61440  
agatctcttc cataagccaa tagctagact aaaccacaga ttagcaaatg tgtacatcat 61500  
atattgtgct agttagtacc aatagaacca tcaggacaat ataaatacta aggaatctta 61560  
gctcttagct tgattagaat ccaatagcaa acacgagtag tatgagcagc cttaggttcg 61620  
acctcaataa ttatattttg cttgtgcata attgcttctt gttgaatatt ggtttttctc 61680  
gcatattata gaaattgtat atcggttagt cgtgaggcaa cgtatgcagc tttcaggagg 61740  
tgaaggttga tcaagattgt atcaagaata atgactattc taagcaggca agtcatcact 61800  
attccttgaa catgttgatc ctaattgcga aattattttg tttacaaata aaattgcatg 61860  
caatgatgaa catcctactt gtgattatgc catgccttga ttattgttta cccttaaaat 61920  
ccttgtaacc atgattacgt atgagtcctt agtcaattat gacaattgct tagagatgct 61980  
attctagaat catgcatact catatttatc aaatgctata tgcttgggca attacctttg 62040  
ggaaggtaat tgagatgcgg catgtggaga catgaacgcc acattgccat gatattaatg 62100  
acatgatttg tgaaaggaga aataaaatta aacaactgtt ttcgactggg gcggacggag 62160  
gatttgggtg gtatctggaa aaggctagta ccgtccccgg tcaattaagg accgagccat 62220

gaagttaagc atgaaacgac ccccgtaaca cgcacttct cgtatgggta tagacctagc 62280  
 ggagtagata gctgagcgga ggcagtatcc atgcatagtg gtttcttgat gtgtgaggca 62340  
 ggggctctac ggtggggcag ccattggtag gaccgcaagg cgggtatcta cagtgggtgc 62400  
 gccatcggta ggactgccat gtgagaatct aaaacataat tataacttaa tgcattgtgtg 62460  
 agtcttcct tcccgggtgc gccagaactc ctctcactgc tagaaaccgt gtacgcctag 62520  
 agtgcattgag gatgaaaagt tcatggagcg ggtactgcca atgcgagggt atcgaaaagc 62580  
 tctgccgtga cgcattctcat gtgttgggac gaggctcatg tgttgggcag tcgaggagtg 62640  
 cgggtaaagt gtacatccac tgcagtgtga gtaaaccaaa tctattcgaa tagccgtgct 62700  
 cgcggttatt gagcaccggg acatgtatta cacttggcta gactctaaat tcttaacttg 62760  
 tggggaatgg gatattgcat gatgaatttt atgctgatgg agccacatcc cgagaggagg 62820  
 gaagggtggac atcctcagaa aaccatgacg attcaatggc gggaagctat ccttgggatac 62880  
 acaatggatg gtggacagaa ccgtcgttgt ttaaagtga cactgggtact aaaatttgat 62940  
 cgatctatgc taggttttag gcttgtgaaa agaattgtaa aattagcttt atgcaaaagg 63000  
 acctgaagcc attccttgaa ataccctcta tcatatgcat tgttattatg gtggcttgct 63060  
 gagtacggtt ggtactcacc cttgctatct atatatcttt taggagagtg ttgaagagaa 63120  
 gcccttgtcg gtacgcttgc gtatcccaca agatgatcgg agtgcggtct tgttctaggt 63180  
 ctcgtttccc cagtcgactg cctgtggcat gtaaccggg cccttatatt atttgtctt 63240  
 tcgctgttgt tctctgatag ttgttggcct acctggccct aatgtaagta ttaactctt 63300  
 ttagcctaaa ttcattcgtg atatgttgt atccaactat gtatgttgt accaactact 63360  
 gatccaggga ttggtacgga taaacacaga agatttccga tttccaaaat cgggggtcta 63420  
 cacctgaccc cctcaggggg ggggggtcgg gcccagggt gatgtggccg cccctctt 63480  
 tgtctccccg aggggtcgg cgcctccgt ttctgccccg agggctgagg cgcccgacc 63540  
 ccttgtgggt ttgcgccgc gtgtatgggt taggtgagca caacggggct cacctaaccg 63600  
 tatttattgt ggtttgacg agcgcgtcac gccgatgta gcgcagtga gcgcgctcgt 63660  
 ttatccggtc tgtgaccagt cacagaccgg tcagatcgtg ggtaggtgg caacaggcgg 63720  
 tctgacacac gcctcgcccc atcccgtcag gataagagcc tccaggcact tgtccctagc 63780  
 ccggagccag catgctaact cctggagatg acacgttgg cccggtcaga tatatgccag 63840  
 gttcatccc aaccattaca agcaagatat tgtatgaaga agggcgaaca tgcagattgc 63900  
 tggactgaca cgtggtggac aagaatgacc gatttgtgac cgtctgaca ctggtcatgt 63960

cgtcggcaga caaccatgtt cccacgttgc acctgctttc ggcggagtgg aggtaggtat 64020  
 gggccatccc atcagaaggt cgttcggaca gcagccattg caagtctccg cccatttatg 64080  
 aagagatgac aggggtgatcc cctggagaga aaaaaaggag gaccttgccc acttaggagg 64140  
 tgaggacgac tggaagggga gaggatctgg agagtagatc ccacgagagg aaaaaaggga 64200  
 gaagagggtt tctagagtaa gagctctctg actctccagc tctttgtagc ttcttcgtac 64260  
 acagatccac cagaaaatag gagtagggta ttacgcttct cagcggcccc aacctgtata 64320  
 catcgcccgt gtcttgtgct tttttcattc tcgcgaactt tccacagact aggagcttag 64380  
 aatctcgccc agggcccccg gccgaaccgg caaagggggg cctgcgcggt ctcccgggtga 64440  
 ggagccccac gctccgtcaa ctttggttta taattaaaaa tactctaagg atatTTTTTT 64500  
 atatTTTTatt ttcttatgtc tatatgaaat tttaaataag atagatgggt aaacatatat 64560  
 tggaaaaaca tatatccaaa agtccactat cacaagcgta gcatagatac gattacaata 64620  
 cgtttccgcg aagactgttt atacctactc tattccctgt tccttgtgcg gttgtgcat 64680  
 ttggggctgt ttttcatct cggattaact cgcgtggaaa ccgcgagacg aatgttttga 64740  
 gcctaattaa tccgtcatta gcatatatgg gttattatag cacttatggc taatcatggc 64800  
 ctaattagac ttaaaagatt cgtctcatga ttacatgca aactatgcaa ttagtttttc 64860  
 tttttatcta tatttaatgc ttcatatatg tgcctaaaga tttgatgcga tgttctggga 64920  
 aaatctTTTT ttaactaaac atgccccagg tgtttctcca attaatgtga cccaaaatca 64980  
 ttcggcgtca cctttgtctt tcactttcct tccactacaa ggtgatgaca ctgacaaaag 65040  
 gtccaaaagc tacaggatct gatTTTTgtt catccatctg tgatgtgtcg gcaagccatc 65100  
 catggagttc atccactcaa ctctctctc tcagagagag agagagagag agagacagac 65160  
 agacacatgc atgatagatt gtgctagtac ggtagtaaca ttttattgcc tccttttcta 65220  
 aaattctagg ttgtttggaa aacaaaaatt ctagattgtt caataaatta ataatttag 65280  
 gtatttattt taagtcactt taggtgttaa tttttgaatt ttaaactgct taaactctct 65340  
 ttcgacgcat ctgagagcag gtacaatagc agactataag ccagctataa atatatttta 65400  
 agtagataaa agaggaaaaa taagagtagc gggctataga tttgtagaca gctgcagcgc 65460  
 gagctccaag atacatatgt gtatgacatg tgagaccaa cattaattat gtagtatatg 65520  
 tttatatgta tctattgtat gaattggcta ttaaattgac tatgggtgtg ttcggagggtg 65580  
 ggtgttggga accatctccc aagcacggaa aacggagcgg tcattatgg cgtgattaat 65640  
 taagtattag ctatTTTTta aaaaaataaa tcaatatgat ttttttaaac aacttttgta 65700

tagaaacttt ttgcaaaaac tcaccgttta gtagtttgaa aagcgtgcgc gcggaatatg 65760  
 agggagaggg gttgggaacc tcctcatccg aacgcagcct atacatgatt tggagccaat 65820  
 agttggctat aatattaaac ttgctctgag tggctcttga atcatcgaag tgatagaaat 65880  
 catatgcaga aatgtttata tttgtgatgt aaaatttgaa tctaaaatta tttatatattt 65940  
 gaaatggagg aagtactacc taaaacaagt atgagaaaga gacatgaaaa acacaaaatc 66000  
 tagacttaaa aataattgga attactagca ggaggctcga gtcaatcaag acggcgaaga 66060  
 aaagcacagg ggacagcaga cacgttaaca cgtaagtaaa caaacaagtg gtttaattaat 66120  
 tagggggccc tcaagtctcc cctaaagcca ctaaactga caggtttgtg taccatggaa 66180  
 aaaagggtga agcaaaactt tattctctct ctcattagat taccagttgg aaagcaatcc 66240  
 tgggacctct agctaactct attattgtag aacaacgttt tcttagagag agagagagag 66300  
 agaaataagt caataaaaat tactactaat ccacttgaac cagttctgtc ggtgtcggat 66360  
 gatttaccac atttgacgaa acggactatt tattcgacgt ttcgaaaaac acactttttt 66420  
 agaaaaaaaa aactttctct tattagccac tcgttttagt tatataccta tccgagtatc 66480  
 tgtttaagttt atttatcaaa atatttaatt tatctctata attaaatata caatccgtaa 66540  
 aaacaatcac gcagtaattc gtttcaaact gagcctcagc tagaaaatca aaatggaaat 66600  
 gaataacaat agcaacagta gagttagttt ttcggcttat catccgcaac ccaaatgcga 66660  
 attttaaaact tagccttaga gtttaatttt aaggcttggt taccatactt cattttccca 66720  
 gcattagttt cttttgtcac taaaaattgt tttttaagt tgtttcgttc attttctcac 66780  
 ggtttatcag cagtagagcg aagccattct tggagcctgt ttggcacagc tctagctcca 66840  
 gctctagctc cactctttct ggagctggag ctacgcccac cagttttagg tgcacaaaaa 66900  
 ttaggagtgt agttgggtgg aactctctca caaaaaattg tggagctgga tttagacagc 66960  
 tccacaactt cactccaaac ccaactcctg aagttaaatt gataagttga agctctatct 67020  
 atcaagccct ttttcttgat catgcttcta cctactccat ttttgtttct tggccctcac 67080  
 aggaattgga aaggaaaggc gtatatgcat caatgcatgc atgcgcacat caacctcgtc 67140  
 catcaaccat cataatcatc atcatctcgc cagctgacga aaatgacctg catccatcca 67200  
 tcacggacaa tccaagcgaa caccgctacc aacatcacag ccaacctgtt tatcactagc 67260  
 tcttgatacc actcctacat aaacactacg cgcaggttaa ttaattaagc gtgattactg 67320  
 aagtaacatc taatcacgtc ctggttagcc ttaataaga caacagttag agcaggtaca 67380  
 atagcagcag gatataagcc agctataaaa aaagagagaa aagagcaacg ggctacagat 67440



ctatagccag ctgtagcatg gacttcaaga cacaacgtgt gtataacagg tgggaccaga 67500  
taataatagt gtagtatagt aagtaactat tatatatatt gactatagat gatttggagc 67560  
tattagtgtg ctatagtatt aaacttgctc atagagcagg tacaatagta ggatattagc 67620  
cagctataaa catattataa tgagataaac attgatagag aagagcagcg ggctacagat 67680  
ctgtagccag ctacaacacg gactccaaga cacaacgagt gtatgacaga tgggaccaga 67740  
tattagtagt atagtaagca actattatat aaattaacta ttacattggc tatagatgat 67800  
ttggagttag tagtgggcta tactattaaa ctttttctct tagcaaaaat caagcgcccta 67860  
atcacattag aggagtagct ttgagacaaa ccaattagcg gcgaatcaag cgatctgcgt 67920  
ggtcgtacag tgatgggccc ggccggggccc acagcccgcac agtgacaggg ggcctgacgc 67980  
atgtcagcct cagccctgga cgggagctag ccgttgtgtc cccggggggag gggagggggg 68040  
cattcccatc atttcgcccc tcctccgggc ccacatctca gtgggggtaa aggtgtaaat 68100  
tactgcgacc gcgagtcacg cgagcctaga tttggacctt gtgtccgttt gactgaaccg 68160  
gagctactcc ccaatacggg gggattgcgt tgtgtgcatg ccatgtgggc ccgagcgcgc 68220  
tttgttcgtg gctttgggtt ggaaagggtga ccgtgtgagc tgtgcggtgt tgtactacgt 68280  
attagtataa atcatttttg ggtactactc cctccgtcca aagcttattt ataatttggt 68340  
gtactccaac cgtccgtctt atttaaaaaa aatataaaaa aaattaaaaa aataagtcac 68400  
acataaaata ttaatcatgt tttatcatct aacaataaaa aatactaatt ataaaaaat 68460  
ttcatataaa acggacagtc aaacattgtc acgaaaatct aatgtttgcc tttttttta 68520  
agaccaaggg agtatctacg aacaaagata atacatgtta taatcatgaa gccatgatg 68580  
tgattagccc ggccgtttga ctaacctcac gagctacgtg gctgacaagt ttaacttggt 68640  
aactccatca tttcggtac ttagagcatg tacaatagca gactattagc cagctataaa 68700  
catattttta tgggataaaa gatgagagag aagagcagcg ggctacagat ttatagccag 68760  
ctgcagcacg gactccaaga cgcaatatgt gtatgacagg taagaccata tgttaatagt 68820  
atagtaagca actattttat aaactggcta ttagatcggc tatagataaa ttggagctag 68880  
tagtggacta tactattcaa ctigctctta tatgatataa atattgatat aactatatga 68940  
ttttgttaat gacatgtttg tttatggatg gactatgtgg ggtcggtcgc ctccgtagct 69000  
gacaaaaata caaacttaaa acccctatct ataaaaatct aacttttggt tataaatata 69060  
gatataaaag ttcataatta gagcctcatc ttttaaacga aaagagtact atgaaaacaa 69120  
ctcgtaatac aaagactaat tacgacgaaa agaaaatagt actgacaaga ggaaagcagt 69180

gaacttgcat actccctccg taaaaaaaaac caacctagac acggatataa cactatatat 69240  
 ctagattcgt tcgttgtaat gaagtgtcac ctccgtatct aggttggttt ttctgtacga 69300  
 aagaagtatg agtaaataa aagctatgta tacccttcgt caaaaaaaaaa aagtaaacct 69360  
 tgtactgggt cgtgtcacat cctaataata tattgttttt tatggagggt gtacagttga 69420  
 aaaaaattga tgtgttttaa ggatgaaaaa tatttgtaat gttggctatg taactctaga 69480  
 aaaaaaatg cagtaataat aaaatgctaa tttgctggag tactagatta tagacaatcc 69540  
 agtccaggac acgacacct ccctactctc tccacttcca ctctcaccgg ccaccgcgcg 69600  
 ctctctctct ctctctcccc ctctctccgc aagattcttc ccccaaatec caccgatcc 69660  
 accgccgccg cccgctcgcc ggagtcccat cgctgccacc gccgccggag ccgcggcccc 69720  
 acgccgccg ggctgtcttg ctgtgtgtgt gaggagggtg agttgtctgc gctcgttccc 69780  
 gcggccacct ccgctgtctg ctgcttctgc ttccgctggc attgcgggga ggtcgtgtgc 69840  
 cgggggacgt gggggctcgt gttggagcgc ggctgccggt gaggtggggg gtgcggcgcg 69900  
 gcgcggctcg cgctcgtcgc ccggtggcgc gggcgcgggg ggaagcgtac gggggagggg 69960  
 gagtgtggcg gcggcggcgc gcggggtagg gacgggcgcc gccaccacca ccggctcgtt 70020  
 cgctggcagg cgctacgcgt ccagatccgt acgccggtat gcttcgtctc gccgcaactc 70080  
 tctccatttg attagtatcc cctcgccgaa acgaggcctg tgaggcgccc gctttctggc 70140  
 tggcttccct gtactcgtg ctgtctcctg cctgttgggt taaccggtt ccacgaatt 70200  
 tgggtaagcg aaacatcgcc tcataatggc atttggggtt ctggcagcct taggctcgcc 70260  
 atccgtcgcc gagcttccaa gtgaccggcg ctgtttggtt tatttgcttg ctgttccctg 70320  
 tttgggtggc gcgctaaatc ttttgtctg cattgaattt atgccacca tatacagcaa 70380  
 attactgagc tgaaataatt cggctaatta ggtccagcaa tatgacatct cgtggattga 70440  
 atgctaagct gacattgtat cactgatgct ggcttatata taggttggtg agaagtgaag 70500  
 atgtcgacag gtgaaacct gcgtgcagag ctatcatcca ggacgccgcc ttctggtttg 70560  
 aggctatgga ttgtgattgg aatcagtatt tgggtggtga tcttctttat actaggtttc 70620  
 atgtgcctct ggtccatata ccgaagggaag ccgaagaagt cctttgataa gattccagta 70680  
 tctcaaatec cggtgtttc caaggagatt gcagtagatg aagttcgtga gcatgctgtt 70740  
 gtcgaaaact tccgtgtgca agaaagccac gcgatatcgg tgcaggagaa acattacgag 70800  
 aaagattcag ggaaaatgct ggcacacttg gttaggagta aatcgagtga tgccgataat 70860  
 ttgagccaat gcagctcggg gtaccaatgt gatagggctg gtagctcgta ttctggtgat 70920

gaaggcagct cgggcaatgc taggaggcac ttttctcaat atgcaactgt ctcagcatcc 70980  
 cctctggttg gtctcccaga attctctcat ctgggctggg gtcattgggt tactctgaga 71040  
 gatttggagc atgcaacaaa tcggttttcc aaggagaatg tcattggaga ggggtggatat 71100  
 ggggtagttt accgtggtcg actcataaat ggaactgacg tcgcaataaa gaagcttctt 71160  
 aataatatgt aagagatcct gaaatctatt ctgcgtttta cagaacttgt gactccttct 71220  
 gatgccatca tattaatttt cttttgatat ggtgctgcag gggccaggca gaaaaggagt 71280  
 tcagggttga agttgaggct attggccacg tcaggcataa gaatcttgct cgccttctag 71340  
 gatatttgtt tgagggaatc cacaggtaaa gctatttata aatcaccttt gctgatggat 71400  
 ggctagcttt tgtttctact ggcacattat ttacttgcat agggatgtag gattgctctt 71460  
 ggtctatgtc cacctactca ccagattatc tcaaggata ggttattcct gactgcactc 71520  
 cttatgctat cgattttttc ctttccaaat ctgatgggtg gattcagcat gccagtgac 71580  
 agattatgct cagtccacag aaaccttctt tggaccacca ttcttttacc atgaaaatgt 71640  
 ggccatagct ccgaaagcta ggattcacta gaagcgcaca actgcttatt ggtttgtag 71700  
 ttggctataa caaggcttta ctgaaatgta ctccatagt tcattacttt gtgaatgcct 71760  
 gttcttggtc ttcacgttc ttctcatgca tgttcaatc taaatttgta ttcatgatat 71820  
 gtccaagcta ctgtattctc caaagaaaat cagaagtcca ttcacctatg tattttccag 71880  
 ttttccgcca ttttggatac tgctctagaa acaagttaat aatatagata tttatatggt 71940  
 ttggccagtg ctgcttaagt gaccatcgag atagaaattg cttagaaat atactaagat 72000  
 gttgagtgtc aggtgttttc ggataatctt gttaccaaca aataggtcct atgaatataa 72060  
 tgggtgtctgc ttcacgtaat tcaaaatcca cactcagcca aaataatctg caatagggtg 72120  
 ttgaaaatat gattatgttt ctcccttggt ttcacatga ctacagaaat gaacaatgtt 72180  
 gctacatctt gtaataattt gtggttttca attgaacaaa acatccatca aatgatatct 72240  
 acagcaatat attttgact tctgagcaca caatagggtt gagtgtattc gagtcatggt 72300  
 cattgattta agctttttat ttcactacat aaccattgat ttgagtgtat ctaaggagtt 72360  
 ctgtttccac aagtacttta tgtaaatggt gtctccttat gctttggcca tccaaactca 72420  
 ttactgttgt ttaatatatt tagtggttag tgggtgccaa atctttcttt gtgtacatca 72480  
 tactatgttt ttgtagtcta ttaaacttcc atcctatcat ctgacttggt atattccagg 72540  
 atgcttgat acgaatatgt gaataacggg aacttagaac agtggcttca tggtgccatg 72600  
 cgccaacatg gtgttcttac ctgggaagcc cgaatgaaag ttgttcttgg aattgctaaa 72660

gcgtaagaaa caaaccatcg tccccgtcaa aaagaaaaga attgttcttc actttagctc 72720  
ttttatatgt atatgtttag ttgcataacc cattttccat aactgaattg gtatacaggc 72780  
ttgcttattt acatgaagca atagagccaa aagttgtaca ccgggatatc aaatcaagca 72840  
acatacta at cgatgaagaa ttcaatggca aactttctga ttttggcttg gctaagatgc 72900  
tgggtgcagg gaagagccat atcacaactc gagttatggg aacttttggg tatgttgata 72960  
tttttttggg gttagtatta atctttccta tgcttagctt ttactgttgg aatgtgcagt 73020  
acttcgctta ttcatacagt ataaaatttt acatgctgcg aactttgtcc ttcgtatatt 73080  
ataacaggta gctttctcat tgctatcatt gattcatttc aggtatgtgg cccctgagta 73140  
tgccaacaca ggtctgttaa acgagaagag tgatgtctac agttttgggtg tgctattact 73200  
ggaagcagtg actggtagag atccagttga ttatggccgg cctgcta atg aggtgagcat 73260  
atatcctaca atctcatgcg tattatgtat gttacaaaag tccgtactat tggaaattat 73320  
tttacggcaa aataacgtct atactaggag agacgaattt gttcagggtg tatggctgtc 73380  
tggcagttgt ctactgtcta gttacccttg tctcactttt acagtctatt gttttatttt 73440  
tcaggagctg actagctgta taccttgctca tatataacaa cactgtaacg tggatgcctt 73500  
gcaggtgcat ctagtggagt ggctcaaaat gatggttggc acaagaagag ctgaagaggt 73560  
agttgaccct gacatggagg tcaaaccgac cattcgggct ctttaagcgtg ctctcctagt 73620  
ggcactgagg tgcgtcgacc cagactctga gaaaagacct actatgggtc atgttggttcg 73680  
gatgctcgag gcagaagatg tcccatcccg tgaggtggta acgctttctc ctttcctgca 73740  
ataacattca tcatattata tcattgcaat aaatctgaag cttttgctgt aatcctactg 73800  
aaggaccgga ggagccggag gggcaacact gccaatgcag ataccgagtc caagacaagc 73860  
tcaagcgaat tcgagataag tggcgataga agggactcag ggccatcagc aaggtttcaa 73920  
ctctaagaag acggtgatca tagtcaagaa caatggcttc aaaactctat gcagtaacat 73980  
gggtggttggc agagaaaaag gggatatttct ggagggcatt gcattttgta ttgtaggtct 74040  
gcatggcggt agagactgga gagagcacag tgtctgatga tggatacccg gagacctgta 74100  
attcccattc agtattctgt ttgttagtca agcagcttgt acagatcggt gtctgttcca 74160  
ttttttcatt ctcttggttt ttttgttttag gaggtcttgg gattaccagt acgaaccgct 74220  
gtctcttttc tagaatcacc aacatggaac ctatcaatat ttactactag tactacgact 74280  
tgctttcttc ttgctgagat ctatcatgta ctgtacataa ctgacgtgtt cagctgcact 74340  
tggacaagta gatgctcggt ctgtatgtcg aatttacttg atgaggtcga gcattaagta 74400

ccatggctgc agccggcttc tgtttagttg tgctgacatg cggcggcgac ctcacgctgt 74460  
gtggcccatc cttgatcttg ggccgaaact gtagcaacgg gcgtacggcc catctatata 74520  
gggattgttc ggcccgttgt agatggggccg gatcgggatt gcgacttacg tgcgacccat 74580  
ttcggttggg ccggttggtcc gctacttcat ctagcagtgg tcggcggcag gggttcacaat 74640  
tccaatagaa tccaaacatt attggattga gttaaaaaca caaaccaatc ggctttttgt 74700  
caggttcaga aaattttaaa ctgaatttta attttttgac aaaaatctat ttagatttcg 74760  
tctgtttttt taggtttgtc aacggattca gcgaaatccg atgatatacg tcgtgagtgg 74820  
atttttgatc cggtatcgag attgtgaacc cttgtcgcgc attgcctgac aaagacaacc 74880  
agtgaagcgc cgtgcgcgcc gcgtgcgcgc cgcgtgacgc gaagatgcgc aggaaggaac 74940  
aagctggcaa gcggcgcgcc catgacggcg gcggcgacga cgaccgcgc gcgtgcgtgc 75000  
gtcaacgcac gcgaccggcc gagatccgtc agtggccgcg gctatatata atacatcgtc 75060  
gcctcacacc cccacacac cgagtcacg ctcgccggag ttagagttcg tagcggcgaa 75120  
ggatatagcc atatattata gatggcgatt ggtgttggtg gctgctgcgc cgtgctgctc 75180  
gcggcggcgc tgctcttctc ctctccggcc accacatgta agcacgcca tcttcttctt 75240  
cttcttcttt ttttcttctt tttttttttt tttttgaaa tgagccgcag ctgacaaaaa 75300  
gatcactcac acatggatac actgtcgtga cactaaccaa tgcctaagcc attttgtttt 75360  
cttgttttgg attttcttt ttatgtgtat cacttttgct tgttgctctt gcagatgctt 75420  
atgattccct ggatccaaac ggcaacatca cgataaaatg ggatgtgatg caatggactc 75480  
ctgatggcta tgctgtaagt agcgggtggca gtacaccaac atctctacct ttattttcgt 75540  
ctcaacctgt acatttacac tatcttggtc tactacctt aataaaaaaa tatatttgat 75600  
gttttaaaat ctattaagtt ctagagatta ggaaagctac acatggtttt atgttttgat 75660  
actattaagt agtatatttt ataagttata ttgaaggctg gggtttcaaa agtttgacta 75720  
cactagatct tattcaaagc gtctaatagat tactgaacgg aggaagtatg aacttataga 75780  
cttgaagtta aacagcatag ccacatctct tcatgtatac ttcacccgtt tcatattata 75840  
agattttcta gcattatcca tattcatata tgtgcgtcta gattcattaa tatctatatg 75900  
aattgggcaa tgctataaaa tcttataacc tgagaaacgg agggagtatg tcgcaaacaa 75960  
caacaacaat aacaacgagc aaaatctgta tcgaatccgg tttccctctt gtaactgtat 76020  
caaagatctg tcctctgaaa cgtcccctgt tcatcaggcc gttgtcacac tgtccaacta 76080  
ccagcaattc cggcacatcc agccaccggg gtggcagctg gggtggacat ggcagcagaa 76140

ggaggtgatc tggatccatgt acggcgcgca ggccatcgag cagggcgact gctccatgtc 76200  
 caaggagggc agcaatgtcc cccacagctg caagaagcat cccaccgtcg tcgacctcct 76260  
 cccgggcacc ccaatcgacc tgcagatcgc caactgctgc aaggctggat cactgagcgc 76320  
 attcagccag gacccggcaa attctgccgc gtcgtttcag atc 76363

<210> 28

<211> 53905

<212> DNA

<213> Orza sativa Asominori

<400> 28

gatcagtgag tgagagtgat gtgctattga ttttcgtcta ggattttgct gtgctcttct 60  
 tcttcttctc ctctctacca agaaagatcg atggaggaga attttagga cgcgtttctc 120  
 acgaattact tagctgttaa tgatcagctt gatgtgtacg atatgatggt gcagagtga 180  
 agttgtgttg ttcactgggt gatcatggga tgggaatatg ggattgttgt aagatgtaac 240  
 tcaagtgttt tcttttttgg gattactttt ggtaataaga gcttgggtga tcgaaaacta 300  
 cagatggttt ttcttttaag ttgtatgac tctgtagagt ttttgagtaa tttgtagttt 360  
 tgtaccctat caaagatcat ctctagctgc ctctgagctc tccaactcta tatgtccatc 420  
 tctagtatat atgtcccata tttctgactg aaaattttca agtcggttgg ttcctccgc 480  
 ctggatatcc tttcagctaa ttagattttt tttaaagat aaatttgcta aaagcttggt 540  
 caaattcagc taagatctat tcaaacttca atttctctat cgaaattccc ggaaatttca 600  
 attcaatcat tcccgaatac atgccgattt ccgtaatat gaaccatgac atgtaaaca 660  
 cgaaggaatc aagggcata ttagtttcat ctacatcga atatacggac acacatttga 720  
 agtattaaat gcactctaata acaaaaaca attacagatt ccgccagaaa actacgagac 780  
 gaatctatta agcctaatta atacatcatt agcaaagtgt tactatagca ccacattgtc 840  
 aactcatgac gcaattaggc taaaagatt cgtctcgcag tttcctgacg aaccgtgtaa 900  
 ttattatttt ttctacgttt aatactttat gtatgtgccc aaatattcaa tgtgacaacg 960  
 tgaaaatttt tatttggaac taaataggcc ctaatatctt ttcaagatat tagaatagtt 1020  
 atccctctcc acctccctgc acaaacagtg aacttctttc tccttgggca caggagtagt 1080  
 agcagctccc ggaaacagaa agcaatcaag caaagtcctg aacctgaagc atcctgaaac 1140

cagcagacgg cagaaaccag tgggcgcagg cgatagcagt ttttcgtggt ccggcgtaca 1200  
 gccaaaatac tggccatcgg gtgcctacat agaatgagtc cactggacgc agctaccacc 1260  
 gtgtgtgcta cactgaccgc cgctgctcgt cgaccagttg tacggggctg acttattctg 1320  
 aatttctaata ggtttatttg ggggtttaga aactgaggg gtgctttaga tccaaagatg 1380  
 tgaagtttgg gcgtgtcaca tcgggtatta tatatagtgt cgcacagggt gtttgggcac 1440  
 taataaaaaat actaattatt gacccatac gataagctat ataatactcg atgtgacacg 1500  
 ccaaaacttt acatccctga atctaaacac ccttttaaat agagtatttg gtgtgaaata 1560  
 taattttgat ttgggaagaa ggtgagttag atttgaaaaa aaaaagcatt tcaattaaaa 1620  
 aatttgccag cagtaaataa agaaactact cggttttgta attaaagtga ggttttggca 1680  
 cttctttgcc cttaaactggc ctccatttta taaagtgaga accgtgcagc aaaagcctga 1740  
 aaaggcaaaa agaaagaaat ttagagaggt tttcaggagg atacaactag gtgggtctct 1800  
 aactctctat gcagctgtgg tctgtggagc aaaacgatga aatggaagac gggacgttga 1860  
 cgagggtgaa gaaaacgagc gtttgaccag cgtcaaccat ggctgaaca gtagcaccac 1920  
 taacctgacc gagaggttga agaagatgca atcaacgggg tactatagtt cccacgaatt 1980  
 tcccagcaac aacgggttgg ttctcactac tcacgaattc cctgtggctc aacaactact 2040  
 agtacatcct tttgtccatt atgataaaaag ttctatctta atttttattt acacgttttt 2100  
 caaactgttt ttaattttc tatataaaaa atacttaaaa tatcaaataa aatctatttt 2160  
 tggagtttta aaaaactcaa ttaatcatat atattattga cttattttat tttacgttga 2220  
 ctaaaatata ttcactctca tttaggttat gttcttttct catcaagata catgatacat 2280  
 tagcatgttt ttcaaactgt tttttaattt tgtatataaa cttactctaa aatatcaaat 2340  
 aaaatttact tttaggtttt ataaaagtaa aactcaatta atcattacta acttgtttca 2400  
 ttttacgtgg actaaaatat cttcatcttc atctaagggtg gtgtttggat ccaaggacta 2460  
 aattttaatc cctatcacat cggatatattg aactaatta gaagtattaa acatagatta 2520  
 atgatgaaac ccattccata accctggact aattcgcgag acgaatatat tgagcataat 2580  
 taatccatga ttagcctatg tgatgctgta gtaaaccatgt actaattacg gattaattaa 2640  
 gcttaaaaaa tttatcttac gaattagctc tcatttatac aattaatttt attgttagtt 2700  
 tacgtttaat acttttaatt agtatacatc cgacgtaaca ctgatcgata caaacaccaa 2760  
 ctaaatcgaa aatcaccgaa tggctcgtca tcctcccaca tgagatgccca agatggaaca 2820  
 ccaacaatcc aacggctagg aagcgcccca tcccaccac cgcctaaccg ctttcctatg 2880

caagtgggtc ccaccccttc cttccttttt tttttctttt tacaaatccc cttccctttc 2940  
 ttggctagct agctagcttg gcccaacgcc acgagccgag ccgagcacat ccggagccaa 3000  
 gccgagctca ggcctcagc tccccctcct cctcgtccca ttcccggttt cctcctccga 3060  
 tttcccccaa atccgcacgc ctctcccctc cgcctccatt tttcccgatt cccaattccc 3120  
 aaatccggat cagccgcagc cgcagcagca aaaaatttcg aaatccaaat ccaaaccat 3180  
 ccccccaag acgacgtcac ccacatcccc acccccgcga gacgagacga gacgactccc 3240  
 aaatctctct ctctctctc ctatgcgcgc cgccgccgcc gccgcagcag cagcagctag 3300  
 gaggcggagc agcagcagca gcagcagctg agatgatcgt gcgcacctac ggccgcagat 3360  
 cccgctcctt ctccgacggg ggaggagggg agcgcggcgg cggcgggtggg ttctcgtcgt 3420  
 cgcaagacgc gttcgaattc gacggggagg aggaggacga cctcgtcctg ctgggggtcgt 3480  
 cgtcgcagtc gtcgcacccg cccgcgccgt cgcaggagtc gtcgtcgatg tgggacttcg 3540  
 acgaggaccc gccgccgccg ccccgccggc ggccgggggag ggggtgggggt ggggactacg 3600  
 cggagcccgc cacggccggc gcggcgccgg cggcgccac ctcgctcatg gaggcggagg 3660  
 agtacggcga gatgatggag agcgtggacg aggcgaaactt cgcgctcgac gggctgcgcg 3720  
 ccaccgcgcc gaggcgggtg cgccgggcca gcttcctcgc gctgctcggg atctgcgcct 3780  
 ccgcgccgcg ccgccgcgtc ctccgggccc aggggtcggg acaccaaaga accctccttt 3840  
 ttttttctt acttgtctgc gctgtaagta aagaataaca attcgcgttc ttgctcttgc 3900  
 ttcgcgggca atcttggtga ggaatcttgt tagggttatg aaattgggca gccagttctt 3960  
 gtttctctg cgtaatcttg gcggaacag tgggattttg tacgattatg gctccgtaat 4020  
 cggcatttct gtgggaaatg aaccacctt agggcatttg accttcgaac agcatgcttg 4080  
 gtgttgcaat ccgtagctat tgccttcac ttaggcacaa gaacttggtc tgaattatga 4140  
 tttaccaact tgtgtttgtt ttcttggtct gagttttctt gcttggttag ggtaggggtt 4200  
 atcaccgtgg tgggtgcagaa ttagatgttc gctacttgtc ttaacctctg ccttgcccaa 4260  
 tttggtaccg agtggttacag ctgggtttag gaagtgtgat ctttgagcat ttctagcatg 4320  
 ttggtctctt tattttgcta atctcacatg gttgtagagg aaggaagcat agtgactgat 4380  
 gatgaatgcc tagatactag aaatacatct ttattaactg aattaggatt gcttgggtat 4440  
 ctatgtagat atgactgtag aatgttactg ctggaaatgc tatccaatat ccattgatct 4500  
 ctagccta atctctctc aggccaagag atcagtcaat tttgaacttt caggagagtt 4560  
 tctatttggg acttaatctc ttttatttgt tacttttggg gcctggctct cttttcatga 4620



ttgctaagta gacaggtaaa gttctaccta aaattattct taaaagttca aaatcgcttt 4680  
agattaagga gtgccagcca gagccttagg cagagtctta taaaccaaaa gcacaatgct 4740  
acaatgttca caaaactttt gtggaatttc cacttgagct gtataaacat cgcaatctac 4800  
tgtgaataaa agaagcactt gatggaagtt catgttagca aatgacatgt tttctgtgag 4860  
gaggttgatt gcttgaactg ttatggactc ttgcaacttt ttattttact tcgtacccat 4920  
ttatgctaata gtgcacaaat aaaattgctg agagtaaaaa tgtacaactt gttacgcacc 4980  
agcacacttc ctatttgtat ccattttcct gttgaatttc aaatgtattc aattgctgaa 5040  
attgttccat tcaacaaaca catattccgt taatgaaatt attatacatt gcgttttggt 5100  
ttcttactca caagtgtcct cttttcttat atcctataga ttgggtgcaac aaattattga 5160  
tgcaattttg gttttgaaca ttgatgatcc tccctgcact attgggtgcag ctgctcttct 5220  
attcgttttg gcaagtgatg tgagtacctc tcaatcccat ccttgtgctt ctgtgcatgc 5280  
ttcattctat tttttacgca tatcgattgt tttcttttat ataacagccc ataaaaataa 5340  
tcacatcatg gcaaagttaa ttatttctcc agtacagtta tataagtatt caccactttt 5400  
ccatgaatat cttggcatgt gattacaaag aagattatit aagaaagtcc atgcttttat 5460  
ttcatcattt tgtttgaagt tgaactttta tttatgggtg aaatttcagt taatattgct 5520  
agcagctcgt attctttaat ggcataactt cacttgtgct tattctccaa tatctccctt 5580  
cttgttggtc aggttcaaga aaatcatttg ttggattcag aatcttgtgt ccattttctt 5640  
cttaaattat taaatcctcc agtgaatctt gttgattcca aagcaccatc gataggttcc 5700  
aaacttcttg gaatcagtaa agttcaaatg cttaatgat caaataagga ttctgactgc 5760  
atttcagagg aaatcctttc aaaagttgaa gagattctct taagctgtca agagatcaag 5820  
tcgctcgaca aagatgacaa gaaaacaaca aggccagaac tgtgtccaaa gtggcttgct 5880  
ttgttgacaa tggaaaaggc atgcttgtct gctgtttcag tggagggtta gttttaatca 5940  
aatttcttgg tcatgatttc cttttatgac cattataatt atttttatga gccaaataag 6000  
cagttgccat aagttacata gcacctgttt acaatattca tgggttggtt gcttagccct 6060  
ttgcttcacc tgcctttgat tgatgacttc catccgtgtt gcacaactga attggagtaa 6120  
ttgactgcac tagaagcacc tatggccatt gtcatactag gaaggttttc ccttatcaaa 6180  
tatttgattg ttacagagac ttctgacact gtgtccagag tcggaggaaa ttttaaagag 6240  
acattaaggg agttgggcgg tcttgatagt atttttgacg ttatgatgga ttgccattca 6300  
acattggagg tgagatctcg ctaacatcgc atattttaca cttcctttgt tcaactctaa 6360

aggatggtgc aagttttgtt cctttttgcc attttagctt taatgtgctt gaagccacat 6420  
 gaaagcaatg cttgtccaga tacatagcca aaggttgta ttttttgga catggaaaat 6480  
 gcttgaggta gtaactatth tcatcaggac atggaaaatt ggctgcatca caaattatgt 6540  
 tgtttcatgt tgcaaaatag ttttttaata cttttttatt ctgcatgtgg tgtagtgctc 6600  
 ttacagtgat tcctctgatg attatatccc ccacgataat aatacttgac atatctacac 6660  
 caagtggaca ttattcattt ggatgttact tttccagcta tacttgctgt tcttgcataa 6720  
 actttggagt aaattgcgta tccctttaag agataaactg cttgggtgctc ctatctgtgt 6780  
 actttttatg cccccaacta ataatgcaat catattacgc tgataaactg aataaataaa 6840  
 ttaacaatat acttctgggtg gaaacctgt gtatcagaat ctcataaagg atacctcaac 6900  
 ttcagctttg gacctaaatg aaggaacatc tttgcaaagt gccgctctcc tcttgaaatg 6960  
 tttgaaaata ttggaaaatg ccacatttct aagcgatgat aacaaggtaa tgttccttat 7020  
 atattctgtt tcagtttagt acccatttct tttctctgta ccattctctc ccctcatttg 7080  
 ttctgtgcaa aatgtgcaa cagtgtgact ttgtatttct gcttaacatt tttctttttt 7140  
 tcctgaaaag cagtataaac tcttacactc attttgcttc ttgcagaccc atttgcttaa 7200  
 tatgagtaga aaattgtacc cgaaacgctc ctgcttttct tttgttggtg tcattatcag 7260  
 tattattgag ttattatcag gtatttttct taataatata atatgtccgc taacacaata 7320  
 aaatgtttta aacatccagt atgttaaagt tgcagtctga cgcctatttt gttttgctgc 7380  
 agctctttca atactgcaga attcttctgt tgtttccagc tctacatctc cgaaatcgtc 7440  
 taaagtctct caacagagtt gctctggtaa taacaaacac caaatttggt tgatcaactc 7500  
 gttggctttt ctgtgcactg tttcaatata gtttggtcgc cattcaagtc tcactacaga 7560  
 tgttgaactt gacctgacac ggtggcacca atatttataa aacgctacct gatattttta 7620  
 atatttcatg tttcctgacc cagattatct tgttggttcc tcatataagt ttaattagtg 7680  
 tcgttcttga aactttgtta tgcagcagat gtcatggggg gaacttcatt taatgatgga 7740  
 aagcgcaaga actcgaagaa aaaaaacctt ttgtcgaacc agacacgcca tagttgctta 7800  
 tcttcaaaat cagaagtthc tcatattact atatcttctg gtagtgatgc tggctctgtca 7860  
 cagaaggcat tcaattgttc tccatctata tcaagcaatg gggcatcaag tggttcatta 7920  
 ggcgagagac atagcaatgg tgggtgcttg aagttgaata taaaaaagga tcgtggcaat 7980  
 gcaaatccaa ttagaggctc aagtgggtgg atttcaataa gagcgcacag ttctgatggg 8040  
 aactccagag aaatggcaaa aagacgccgt ctatctgaaa atgtaatcac cgacagtggg 8100

ggcggtgatg acccttttgc ttttgatgat gttgatcagg agccttcaaa ttgggaactg 8160  
 cttggtccaa aaaagaaatc gcctcagaaa catcaagaca aatcaggaaa tggagtgcta 8220  
 gttgcaagtc atgaaccaga ccaacctgaa gatcttaatc agtcgggtac aacatctctt 8280  
 tttagtgcta aagatgaatc cagtcttttg gaagactgcc tcttggcatc agttaaggta 8340  
 attaaatatg tttccttctg atctttcttg tttcttcttc aagagaatat acattcttgg 8400  
 gtcacagttt ctcggtttgt ctttgtgact ttgttgagtg acatattttg aattcacaaa 8460  
 atttcctttt caatatggct cctcaatcta tagcatctgt cgtgtatgta ttctgtacaa 8520  
 aatagtattg taacatctcc tagaagaaat tggcaccatc catatcatc agtagcaatt 8580  
 tatgagacgt gatcctgatt ggaggttttag gacagagcct cgagctaaat tgctattgta 8640  
 ttgtatctac tatcttttag tacatgatat gtgctgggca ctctgtgtct gagtgtagt 8700  
 agtgcttaag ttacatagt tcagctaaca tgcataatgta agacagttta tgattaaatt 8760  
 taagtgtaga aagaaggtag tttcaaaaga tttttaagga caatataatt gtttcaccgg 8820  
 gactcatgct tgttctgact gtgagcctaa tgttacctt acatgccctt acattgtcta 8880  
 ttttttatcg ttttatgaga tcttccaaac aacttgatct gtcttaatgt ttttttgcta 8940  
 gctcctttct tggatatctg gtaaattggtt aggccgaagt atgaactttg ctttattgtt 9000  
 tcaaagaaaa tgtaacaact cctggaaaag tctaattttg gttgcccttt attttgctga 9060  
 ccgtattggc acacatctaa ttctgctgtt cctttctggc aggttcttat gaacttagca 9120  
 aatgacaacc catctggttg tgaattgatt gcgtcatgtg gtggacttaa caccatggcc 9180  
 tccttgatca tgaagcattt cccctcattt tgttttgtcg tggacaacaa ctataacacg 9240  
 agagatgtca atcttgatca tgagttatca tcttctcaaa acagcaaggc acaccaggtc 9300  
 aaaattaagc aattgcgaga tcatgaactt gatcttctgg ttgccatatt gggcttgctt 9360  
 gttaaccttg tagagaagga tagccttaat aggtaagtcc ctcacatgct tccttccatt 9420  
 tgctcaattc atatcagtgt tactgttctg gcagttcctt ggggtcagga ctcagaaaca 9480  
 tccaattaat gttcatgttc tcttaacgac tcagaaatac tttataacct ctccacaggg 9540  
 tacggctttc atctgcccgt gttcctgttg atctatctca gaatccacag agtgaagaga 9600  
 cacagagaga tgtcatagca ctctctgtt ctgtattctt agcaagtcaa ggtgctagt 9660  
 aagcttctgg aactatatca ccggtaatc aaaattcttc aagttccttt tgtatgtaga 9720  
 ttatatcttt gtaaaactcg gcatttatta cctgctcttt gtttcaaaaa gcagtatttt 9780  
 atttgctcc ttagcatagg tcagcagaac agttgatctt attcagaaaa caatatattg 9840

catgtaacat actgttatct atgagatgaa aattaatgca tgtgtaataa tgtcaatgat 9900  
aaatatttgc tatctgaatc cagictacca actctagtta gaccgaaatt actgagggtc 9960  
tatttcaaag aataatttag tgcaccattt gttcaactac tatgaagtaa aatgggtattc 10020  
ccttctattg acatcgggtt agaagtgaaa ggccatctta atgcaatgtt ctcaatgcca 10080  
caaaccaca aatttcatta acacatacag attattatta acatagctat aaattggatt 10140  
tccagaagct tgagttgaat ttattttgtt acaattgaaa gcactgggaa cattagcatt 10200  
tttttttagt tcttgggttat tgcaatttat aatgttatac agaactgtgt acctcacaat 10260  
gcattcatta tgacattcta tgaaccattt gattgactgt tgcttgtaaa caacaggatg 10320  
atgaggagtc tttgatgcaa ggagcacggg aagctgaaat gatgatcgta gaggcctatg 10380  
cagcccttct tcttgcgtt ctttcaactg aaaggtttgc aatctgtagt tgatggattg 10440  
ttttattaat gtctaactac ttgcataatg tcagcactat ggcatTTAAC ttatactgtc 10500  
tgttaactgc aacagcatga aggttcgtgg agccatttcc agctgccttc caaataacag 10560  
cttaaaaatc cttgtgcctg cgctagagaa atttgtggta tgtctccata attcttgaac 10620  
tactgtttgt ataaaaaagt atggatgac tttgaattta ctccattttg gaaatcatta 10680  
atttttcatg tctgagggtg gaggtgtcac cataattgta cttcccatcc aggaagcctg 10740  
tttgcaaaat ttcacataaa taaggaaaat ttgaacttgt ttcaagtttg aatagtaaca 10800  
ggatgtttta tttctcaact ggagaaaaca ttccggctgg gacttttaac ccttaaaatg 10860  
ctagtgtgct cccactgtaa gattgtctgc tgtcacattt gaaactttgt gtaatacctt 10920  
tatcactacc cttgagatga gagacacaat ctggtaccga gttaagttat tgataactcc 10980  
cagttgaagt acagcaccaa atcaagccaa catgttggct acgtaattaa atgttctctt 11040  
acaacagata gaggtaaaaa gggagtttct aagtatctaa cctcttacc tcttggctta 11100  
gcactccagg cacaactctt tcttaacttg cgatttagga cttgactctg agaatattgt 11160  
gtgcccacac tggttgagt catgcctatc taagctgcta gttttgttc attttgatta 11220  
actctgaagc tgcctgagct tattctgctt ccatcattta ttaatccatc atgtttctct 11280  
ttcagtcgtt ccatctgcag ctcaatatga tcacagagga aacgcactca gctgtcacag 11340  
aagttatcga gaaatgcaaa ctttcataga aagagtgaag aggggcctgt acagatcaac 11400  
taacaacctc tttgcagcaa aaaagcatac acacaagtgt ttgtcttggc ctggggctct 11460  
gcagatggac tgatactctg acctgcagtg ggcttgggag ctaacaatgg tttcattctt 11520  
ttttttttta tgttttcccc tgttgttttt gctcatgttt tgtgtaattt tttcttctca 11580

tctagcgatg ttatTTTTct tagcatgatg ggagtagccc tcctTTTTtt tttctctaatt 11640  
taagtgtaaa gtagcaacag catagggatg aatgttcagt gtagtgtgtg gtgtttcagt 11700  
tattcagaga cgtccataca gtttgtacct tgtgaccaca cgtcttaatc tgatgaagct 11760  
tagaataaat cacatgtag caatgcaata tcatctgcgt cttctctcac tttggtggcc 11820  
atcaaattct gtgtagaagt gtatggttgg tgtgctgttg caaatgccgt attccgctct 11880  
gttttgtgga agttaagaag tccctagtgt aaataccgat tttcatgat ctcggagatt 11940  
gatgcaactc tgattgcagc atttctTTTT attagaatgt acactccatg ctatcatgat 12000  
gtttattgtt tagtactaca agatttgggt aaccattatt ttaatatcat aataatttta 12060  
taaaatcttg gagtaacaag ttcataatac atgatagcat aactttttga ggctagtcta 12120  
tgtatattgt ctcctttgtt tttaaactaa gcactcaata aattattgat ggctgtaatt 12180  
ttctgaaggt ttcaccggtt tcggcccggt ctttataaat agcttcggca caaaagacaa 12240  
aacggtcctt ccaacacata aatggttgag tttacgtttt cattatcttt ggtaaaatca 12300  
agtccaccac gtagacactc ataacaaaag tttgaatata ctcagaaatt ttgacttgag 12360  
tctatcttac ctttgatata ggacatccaa cctccctcc ctcctgaac tttatattat 12420  
tcatattaca cctgaacttt atattattca tattacacc tgaagtgggt ttcatttaat 12480  
tgcatacatg ctgaaatagt ttgacaacgt gagatgcaca aaatctacac gtctgtctta 12540  
agttgcaatt cattttatcc cttttctttt tctctcttac ataggaatat caatagtact 12600  
aattcacatt acaatatagt ataaattgggt gatcgattat tggcaatata ctatattaaa 12660  
tattcaaaac tagtcattta agctgccaaa taagtaaacc actatcgaaa accacaatat 12720  
aaatggcatt acaaaaactta gggggttgaa tatccaattt taaagttcat gatgctagag 12780  
gaatttctat caaaagtta tgggtacata tggacttttt cttttttaaa agaagctatt 12840  
cttatcgtaa acgttaaata tttttgttac tttatTTTT atgattgaaa aaaaaactta 12900  
gttttcaaaa tgattggtct gtatacaagc atcaattaga cttataaat tcatctaaca 12960  
gtttcctggc agaaactgta atttgTTTT gttattagac tacgtttatt atttcaaag 13020  
tgtgtacgta tatccgatgt gacaacaaa ccaaaaatt ttcctaact ccatgaggcc 13080  
ttacagatat atttgatggg tgtaaagttt ttaagttct ttgggtgcaa agtttttaa 13140  
gtatacggac acacatttga agtattaaat atagacaaat aacaaaacat attacatatt 13200  
ctgcctgtaa acaacgagac aaatttatta agcctaatta atctgtcatt agcaaagctt 13260  
tactgcagca tcacattgtc aaatcatagc gtaattaggc tcaaaaatat tcgtctcgta 13320

atttacatgc aaactgtgta attggttttt tttttcgta acatttaata ctccatgcat 13380  
 gtccaaatat ttgatgcgat ctttttggcc aaattttgtt ggaatctaaa caaggatcaa 13440  
 atttgctgaa tttttccaga cgtcacggct tgttcatcca tcgttcgcat cgcgattcgc 13500  
 caccgacgcc ttggtttcca acgaatttta tcatccgctt aaatacatcc aaagctctcc 13560  
 atcgccatcg gcggccaacg gcgaccgctc cgctctaccc aatccaccca tccactcgcc 13620  
 gccgccccct gatccaaagc ctccgccgcg ccgccgtcga gaggaggagg aggaggagga 13680  
 ggaggaggag gaggcgtgag cccctatggg gaccctctc cggccgcgtc cgctcgccca 13740  
 cgccgccggc gccggcgacg ccacgccgtc gaccgcgcac ggtagccacg cgcctctcga 13800  
 gaggcccccc ccccgccgct cgctgatctc tcttctcatc ctgtttgggt ttgggtttgt 13860  
 gatttgggtg ttttttttt tccgcagcgg tgggtgtgag cggtggccgc ggccgtggcg 13920  
 tggagtgcc a gccgcatcgg gtgcgccgcc gccgggtcc gcaggttgcg gtggcgacgg 13980  
 cgagctggag gaggcggagg gagaccgtgg tgagatcgga tttcgccgct ggtggtgccg 14040  
 ctaccatggg ggattcgccg caggcgctct caggtttgca gcctcctcca ctctcttctc 14100  
 gcaaaatgtg ttgctatgtt cctctcgctg ggctggcctc atagccatta atgtagtttg 14160  
 ctggaacatt acattcgga cgttgttggc aattgcttga caaaatgtgg aattgtggag 14220  
 gggagaaaaa tcgtttgaac ctgcagtgc aaaattgcc tctataattt taaaactgaa 14280  
 ggtgtggaaa tcaaacataa tcattgccag cacatcattc ttgttaacca ccttgacata 14340  
 ttgttggctt ataacagtta gctccacacc aacttgaag gtgtcaatgg aatgtaagta 14400  
 taaattgagg ataactggca gttgttaaga ctttctacag aacttgtagc agctaaaact 14460  
 agctattgtg catttatgtt tcatggaatt tgagcggcaa tggatatttc ttactaagac 14520  
 gtataatgca aaacaaaaaa aaaaaaact atgtctatgc agtttacatg taatgtgcgg 14580  
 atgcaaataa aatcatgttc atggacaaac taatgggatt cataccaaat tccagaattg 14640  
 catttcttat gtggttactt ttgtttgttg atttggttac cagacatcga tgtggtttca 14700  
 agggtcagag gggtttgctt ctacgcggtg actgcagttg cagcaatctt tttgtttgtc 14760  
 gccatggttg tggttcatcc acttgtgctc ctatttgacc gataccggag gagagctcag 14820  
 cactacattg caaagatttg ggcaactctg acaatttcca tgttctacaa gcttgacgtc 14880  
 gagggaatgg agaacctgcc accgaatagt agccctgctg tctatgttgc gaaccatcag 14940  
 agtttcttgg atatctatac ctttctaact ctaggaaggt gtttcaagtt tataagcaag 15000  
 acaagtatat ttatgttccc aattattgga tgggcaatgt atctcttagg agtaattcct 15060

ttgcggcgta tggacagcag gagccagctg gtatggctgt agtctcatcc ctgctttctt 15120  
 aagtagacat atatacattt acagtatttg gtaaataaac aagattttat gaatcatata 15180  
 tgattttggg gaaaacacaa aactctcttt gttggctgcc ttgaacatag ttctgttcac 15240  
 acagttatag caccttcttt aaaatgaaga actttgttgc atacacataa ggccaaacca 15300  
 cataatgaat tttgtttatt tctatctttg aatgttagca tcgtttttgt ttaatgcatg 15360  
 atcgccctcc tatatatattg tagtatgtca acattgtatt ccatgctgag cataacaaat 15420  
 ggtttgtaa aattcaggac tgtcttaaac ggtgtgtgga ttggtgaaa aaaggagcat 15480  
 ctgtattttt cttccagag gggactagaa gcaaagatgg aaagctaggt gcatttaagg 15540  
 ttcagtaacc aaacttaggt tacattacat ctaatgagat ttttatattc agtatataat 15600  
 gttaaccttc tcatgggtga ctgacgtggt tataaatgtc cccagagagg tgcattcagt 15660  
 gtggctacaa agaccggtgc tccgtgtgata cctattactc ttctcgggac agggaaactg 15720  
 atgccttctg gaatggaagg catccttaat tcaggttcag taaagctcat tattcaccat 15780  
 ccaattgaag ggaatgatgc tgagaaatta tgttctgaag caaggaaggat gatagctgac 15840  
 actcttattc taaacggtta tggagtgcac taaagaaaga tgggtgtttt tttattata 15900  
 tggaacctat tcaaaggcac agacaggctt tcaaggctaa gcttggtaca ggtactgata 15960  
 ctagttacta attactttcg taatcagtat aaataagctt gtgtagtgta atggcattgt 16020  
 acatttctgc acttggtaaa ttacagaag aggcaagtaa tattttagag gattgagttt 16080  
 attcaccag tcatatagtt gaagaggcaa gtaacctgta agagaggact gaacattaac 16140  
 acctcttggt cgattaaaaa tgaccaaaga gcatcaaaca tgtattcgag gctgttactt 16200  
 tagatatggc ccattaattt gtttagttgt ctatgtacat cctagttggt gtaaattgcca 16260  
 gttaccattt ctatgatcta aaacaatcaa ctcttttagt atattttcaa aaacgaaaat 16320  
 tcagtacaca tgtatgaatc ttaatatctt tctctagctc gttacaaaag caacaaaggc 16380  
 accgtgtcag ctggttcaca ttagctagtt tgtacttagc attatccact agcaccttat 16440  
 tttcatgcat atcatgctaa ttgcttgcc cacgttgagt gggaattttt ttcattgttt 16500  
 ataatttata tatgttttag acttctagtc cacaatttat gtacttcattg ttctgagcc 16560  
 tctagtatgg ctgatagcag actaggtgct gagtgcgtgc cttttttgca gactgaagag 16620  
 agaagaaata caagactgtc cattgttagt cagatttgta aaaatagact ctgatgtagt 16680  
 ttacttttgc ccctatttta tttttaacaa tacaatatata taacagatcc taagaactta 16740  
 tcttaattta ggagaagttg ctcgtttcat taaattaaat tgtgaagtaa aaatgtgtgc 16800

tcgagtctgt caatgcaatc ctgtgttctt gtttgaagat atggtgtagg gcaggccagg 16860  
attgaacact gaatggtaag actgcttctg ccttcagacg ttattgctaa attttttagct 16920  
acttgcagtt agtgctgcca cgccgattaa gcagtagaac aaagtagttt tgtcgtgcac 16980  
aaatgagtta tatttcattg gaaatcgaag cgaaaacgaa tcaaaagtta gaagaaaagg 17040  
ggaaacttgg taattactcc ataaagagag tgcattttat tggttaagatg gtatccggaa 17100  
gctgtgagct ccgggctgta tgtattctgg caaatttgat atgagatgct cgattattgg 17160  
cttaagttag cgatatcaaa tttggggaag caccaaagga attattgtga aggagttagt 17220  
ggtgcgtgac gttatctgct aggttcaaat ccttgtggct atgaatattt atctgctagg 17280  
ttcaaatcct agtgactatg aatattaatg ggtaaggtaa gggatttatt gttaatttta 17340  
gtttctttta gatttgcca tcggacgcca ttcggtaact gtaataatgc tttgtattgg 17400  
attcacttgt gttacatgca cgactaaac atgtgcttta ccttttcac tgtttttgcg 17460  
ttctgggcta gaaactcaaa cgttgaattt tccatggctt gctcaacttg acaattactg 17520  
cgtgtcaagc gatcttatac gcatactatg cgcacaagtg attgtatacg gatatgatga 17580  
cagtataacg tgtgatattg atttttttta taaaaaaatg atgttccttt ccttgatgaa 17640  
ggaacaaaga cttttttta aagaagggtta ttactaaaaa caaaaatgac aaaaacaaaa 17700  
tatcagtgca catggcaagt gtgctcggca attttttctc tgtactttta acaaaaatac 17760  
ttctatatgt tcttttttat aagggtggca caaatctttt aaatgagcca aatatctaca 17820  
ttggatttat taaaaactgt ataaattata atttatactc tgaaagggtg tgtgcatctc 17880  
tcttgagaa aatgtataag ttgcaaaca acattaatcc acgttatgta actttttttc 17940  
gccggaaagg ccgaaggagg cctgacggag cgtggggctc ctcaccggga gaccgcgcag 18000  
gcccccttt gccggttcgg ccggggactc agggtgaaat tctaagctct ctgtatgtgg 18060  
aaggttcgcg accgtcgaaa gagcataaga cacgggcgat gtatacaggt tcgggccgct 18120  
gagaagcgta atacctact cctgtgtttt ggggggatct gtgtatgaag gagctacaaa 18180  
gtatgagcca gcctctccct tgttctgggt tccgaatctg gaaaagtcca gtccagtccc 18240  
cccctctaag tgggcaagg cctcctttta tatcttaagg ggataccaca tgcacatct 18300  
ccctcctttc tgtggggact taccctacct ttccataaat ggacggagat ttgtatagtt 18360  
gccgtccgaa tgaccttctg ataggacggc ccatacctac ctccacttcc gccgaaagca 18420  
ggtgcgacgt gggattatgg ctgtctgctg acgacatgac cagtgtcaga ctggtcacia 18480  
attgctcatt cctgtccacc acgcgtcagt ttagcaatct acatgttggc ccttcttcac 18540



acaacatctt gcctgtaatg gttaggatga agcctggcat atatctaacc aggactaacg 18600  
 tgccatctct aggaggtaac acgctagctc cagctgggga cgagcgccta gaagccctcg 18660  
 tcctgacggg atggggcgag gcgtgcgtca gatcgctgt cgccacctaa cccgcgatct 18720  
 gaccggtctg tgactggtca cagaccgat aaacgagtgc actgcacttc gttacatgcc 18780  
 gcgtgacacg ctacgcaaaa ccgcaataaa tgttggttagg tgagccccgc tgtgtcacc 18840  
 taaccatac acgcggagca aaaaccacg aggggtcggg gcgcctcggc cctcggggcc 18900  
 gaggcgggtg cggctcgacc ccctcggggg gactaagagg agggcgaaca catcacctc 18960  
 gggcccgacg tccccgagg gtgccaggcc acgtgggcga ttgtgtctgc ctcaaactc 19020  
 tagtcatgat actcctgac ccatgtcacc gacagtagcc cccggcgta tgccaggcg 19080  
 atcgccctct ttaagggaag cggctcggcg tgacgccact cctaaggcct ggtgacaggt 19140  
 gggaccggtc tccacaattg ggcagaaacc caacggtcac aaatcacgca catcggcaat 19200  
 ggtaactcta ctatcaataa tgagcggctc cttcaagact gccacattac tcgagtagca 19260  
 caggaatctg gacatggcga ttctgttctg ctggagatat ggtaacgtcg ctttggctcg 19320  
 cgagcgtaat taacgcgcgc acgatatgat ctatctcgac tgccacaacc gcatatccac 19380  
 ctcatgcgcc gcaagcgggc gaatgggatt agtggaagcg tgggcgcgag aaacgagggg 19440  
 gcgaaatagt gggcgcgaga agcagaggagc cgggcacagc gttggcaaga gtataaaggc 19500  
 actgaggaaa ggatctgttt ccttcctttc gccatcattt cccttgtctt cgccgcttgc 19560  
 gccctaactc cttctttct gtgtctact ttcgccacac gcgtcgcctc tcaatcttct 19620  
 cttcctccgg cgccatggca cggggctccg ctctgctcga tggtagcgtg ctgccgcctt 19680  
 cccgcacgtg gagcgagagg caggctgggc tgccgcgcg cttcatgccg gaatctgcca 19740  
 ccggccggga gatagtcacg ctgggtgagg gacgcccgcc gccagactac ccggggcggt 19800  
 ccgtcttctt tctcccttt gcaatggcag ggctggttcc gccattttct tctttcttca 19860  
 tggatgttct gaagtctac gatctccaga tggcgcacct ccccccaac gcggtgatga 19920  
 cattggccat cttcgcgat ctgtgcgaga tgttcattgg ggtgcgcca tctcttcggc 19980  
 tgttccggtg gttcttcacc gtgcagtcgg tgcgcgcc atcggtagt ggtggctgct 20040  
 acttccagcc atgggggccc gtgtgaatc gctacatccc ctgcgcctc cgcaagaagt 20100  
 gggacgactg gaagagcgac tggttctaca cccccctgc cgacgaagcg cgcctctgac 20160  
 ttccgagcca gccccggcg caggcctcca gctggcgggc gccggtagat ctgggggatg 20220  
 gctatgacgc cgtcctcgac cgcctggcgg gcctacgat ccaggggctc acaggggcca 20280

tgggtgtacgg cgactacctc cgtcgtcggg ttgcgccgct ccagcggcgc gctcggggcg 20340  
 cctggggagta caccgggtcc gaagactaca tgaggacca ccagggagtc agatgggact 20400  
 gggctcctga ggatttcaag atagtgggtcc aacgggtgct gaattctaac tccatggagg 20460  
 cgtccctcat tccccaagga atcctccctc tctgcagcga tccagaccgc gcctccatcc 20520  
 tgaccattat gacggcggtc ggggcctcag aggagtggc tccaaagggc cagcagggcg 20580  
 caggcgggag ccgtaggggg gatcaatcta ccccgggagg gggctgtgct tctgggtctc 20640  
 gcgacggagg cccgaggagc agccgccctg ccgacgcccg ggggaagagg aagcagggag 20700  
 gaacacctcc cccatctcct ccccgagggg gcggggcggg gcgtgccaac agcaggcgcc 20760  
 cggagggggc cgcgccgaca tcgcagcccg agggggagcg caagaagaag cggctccgca 20820  
 agatggggga gacagaacca tctcggggaa acctatttc ccctccaaag tggctgttta 20880  
 accgaccccc tcgcaggttc gtctctcacc catcgtggct gtattcattc tctcaacgcg 20940  
 agttttcact caccatctt gticgtcttc tggctttttc ttctgtttca gcgagatccc 21000  
 gtcgcgtccc tcccgccatt ccaagtccgg ccagtctgag gccgaggatc cggcggccgc 21060  
 agaggcccgg aggcgggaa ctgaccggcg agaggccgcg gatcgctac ggggaagccga 21120  
 ggaggccgcc caggaggccg cccgggctcg ccagggcgag gaaaccgctc gggaggaggc 21180  
 cgcccgggcc cgccaggccg aggaagccgc tcgggaggag gccgcccag cccaccaggc 21240  
 cgaggaagcc gctcgggaga aagccggatt tcgccaggac gaggcaatgg cgacttccga 21300  
 ggcagctcgc gatgaggtcg cgggcgcgtc gcttgagccc gcttcctcgg gcgacgtca 21360  
 ggcgacaact tccggggcag ctggcgacga ggctgcgggc gcgtcgcttg ggcccactcc 21420  
 ctcaggcgac gcccaggacc aaccaggtct gagggacatc cccgagtccg gcacttccat 21480  
 cggcggcccc agccgcgtgg catcctctcc aaggcggctc ttccccacgc cttctatcgc 21540  
 cccgctgagc gcagagcccc ttctgcaggc cttggccgcc gcaaaccatc cggtgttgga 21600  
 cgggcttagt gccaggttg aggccctgca agcagagtgg gcggagctcg acgccgcgtg 21660  
 ggcgcgtgtc gaggaggggc ggcgctcagt ggaggccatg gtggaggtgg gccgcaaggc 21720  
 acaccgccgg catgtctcgg agcttgaagc ccgtaagaag gtgttggcgg aaatcgccaa 21780  
 ggaagtggag gaggagcggg gggctgccct cattgccacc agcgtgatga acgaggcgca 21840  
 ggacaccctc cgccttcaat acgggagctg ggaggcggag ctagggaaaa agctcgacgc 21900  
 cgcccagggg gtgcttgacg ttgccgctgc ccgagaacag cgggcggggg agaccgaagc 21960  
 ggcgtcccga cggcgcaag agacccttga ggcgcgcgcc atggcgctgg aagagcgcgc 22020

ctgcgtcgtg gagagggatc tggcggaccg cgaggccgcc gtcactatcc gggaggcaac 22080  
actggcggcg cacgagtcgg cctgtgccga agaggagtcc gcactccgcc tccacgagga 22140  
cgcgctcacc gagcgggagc gagctctcga ggaggccgag gccgcggcgc aacggctggc 22200  
ggacagcctg tccctccgcg aggcagcgca ggaggagcag gcgcgccgca ctctggaatg 22260  
tgtccgcgcc gagaggaccg cactaaacca gcgggccgct gacctcgagg cgcgggagaa 22320  
ggagctggac gcgaggggcg gcagcggcgg ggcggtcgcg ggcgaaaacg acttagccgc 22380  
ccgcctcgct gctgccgaac ataccatcgc cgatctgcag ggcacgctaa actcgtccgc 22440  
cggggaggtc gaggccctcc gcttggcagg cgaggtaggg cccggcatgc tttgggacgc 22500  
cgtctccgc ctagatcgcg ccggtcggca ggtgggcctc tggagagggc ggaccgtaaa 22560  
gtacgccgcc aaccatggag gcctcgccca gcgcctctcg aagatggccg gggctctcca 22620  
acggctcccc gaggagctcg agaagacaat taagtcatcc tcgagggacc tcgccaagg 22680  
agcggtaggag ctcgtagtgg cgagttacca ggccagggac cccaatttct ctccatggat 22740  
ggcgctggat gattccctc ctgggaccga ggacagcgcg cgcgcaggtc cgggatgccg 22800  
ccgaccatat cgtccacagc ttcgagggct cagcccctcg gctcgcgttc gcccccaact 22860  
ccgacgagga ggacaatgcc ggtggtgcag acgacagtga cgatgaggcc ggcgaccggg 22920  
gcgtatcgga ttgatcccc aagccccgc cattcttcag tttttcttc tttccttct 22980  
tctaaggcct tcgggcctct tttttgtata gatcaactta atctgtaatc aaaaatgaag 23040  
aaatttttgt gtcaatttca tcttgctgtg tgtatgagat gaggatgatc tgtgacgtgg 23100  
tccttttgcg tcttagcttg attaagggct cgtgcccagg tcccagtcct caaaaggcgt 23160  
gggtcggggc tagtgcctgg ggagatccac atgtcgagac tggccaggcc gggaacgtgg 23220  
tgaccgaggg ttatgggtga cccgattgtg ggtttttgcc gattcccccc cggagttcac 23280  
cacgccccgg ggacgggctc ggttctgggc ccggtttggc gatttttagcc gaccgagcc 23340  
cccgagggca ggattgagca cgagtgcct atttcaagtc aagattcttc aaaaggaaaa 23400  
aaaaacacag atacagcctt taggaaattg aaactgcttt tattgaaata ctgaaataag 23460  
agaaataaga atgtgcatgt gtggcagccc ccggccaacc ctgcacgccc gagggggtgc 23520  
ggggttggcc cgagcccgaa acctgacacc cgaccccccc cctcaggggt agaagcgacg 23580  
aaggtgttcg atgttcacg ggtaggcag ctcaatgccg tcgcccgtgg ccagccgtat 23640  
ggagcccggc cgggggacgc cgaccactcg atacggaccc tcccacattg gtgagagctt 23700  
gctcaatcca gcacgcgttt ggacgcggcg taggacgagg tcgtcgacgc agagtgatcg 23760

ggcccggacg tgacgctgat ggtagcgccg caggctctgc tggtagcgcg cggctctgag 23820  
 ggccgcgcgt cgccttcgct cttccaagta gtcgaggta tctctgcgaa gctgatcttg 23880  
 atcagcctcg cagtacatgg tggcccagg agacctcagg gtgagctcgg atgggagaac 23940  
 cgcttcgcg ccgtagacga ggaagaaagg cgtttccccg gttgctcggc ttggtgtagt 24000  
 tcggtttgcc cagagcaccg ctggcaactc ctcgatccat gaatcgccgt gcttcttgag 24060  
 tatgttgaag gtcttggttt taaggccttt gaggatttct gaattggcgc gctccacttg 24120  
 gccattgctt ctgggggtggg cagggtgaggc gaagcagagc ttgatgcca tgtcttcgca 24180  
 gtagtcgccg aagagttcac tagtgaattg ggtgccatta tccgtaataa tacggttagg 24240  
 cactccaaac cgggccgtga tgcccttaat gaatttaagt gcggagtgc tctgatctt 24300  
 gacgaccgga taagcctcgg gccacttagt gaacttgctg atcgcgacat acagatactc 24360  
 aaaccgcgc ggggcccgc taaacggtcc caggatatcg agccccaga cagcaaatgg 24420  
 ccacgaaagt ggtatggtct gcagggcctg ggccggctga tggatttgct tggcgtggaa 24480  
 ttgacacgct ctacatcgcc ggaccaggtc gaccgcatca ttgagagctg tcggccaata 24540  
 gaaaccctgg cgaaaagctt taccaaccaa ggtgcgcgag gcggagtggg ctccgcattc 24600  
 gccttcattg atatcggcaa gaagcacaac gccttgttcc cgaggaatgc acttcaggag 24660  
 gattccatta gccgcgcgcc gatagagggt cccttctacc agcacgtagc gtttgagat 24720  
 gcgatggacg cgttcactcc cttcgcggtc ctcgggtaaa gtcttatctg tgaggatatgc 24780  
 ttggatctcg gcaatccaag caatcaatct aaggagctg ggagcgctcc cctcgggtcc 24840  
 cgaggcctgg acttcaacgg gcctcggggg ccggtcaggc gcgtccgtct cccctaaggg 24900  
 gtcgggtcgc gccgacggct gggcaagcct ttcttcaaag gcgcccgggtg gggctctggc 24960  
 tcgctgggac gcgagccgtg agagttcgtc ggcaatcatg ttatcccgtc tgggcacatg 25020  
 ccgaagctca atcccgtcaa aatggcgctc catacgccgt acttggcgca cgtaggcgtc 25080  
 catctgcggg tcagagcacc ggtactcctt acagacttgg ttaacgacca gctgggagtc 25140  
 gcctaacacc aggaggcggc ggatccccag tccagctgcc actctgagtc cggcaaggag 25200  
 tccctcgtac tctgccatat tgttggtcgc tcgaaagtcg aggcggacca agtatctgag 25260  
 gacgtctccg ctcggagagg tcaacgtgac cccgcaccg gcgccctgaa gagacaggga 25320  
 gccgtcgaac tgcattacc agtgggcggg gtgaggcagc tgcgagggt ccgtgctggc 25380  
 ctcggggatt gagacgggct cgggagccgg ggtccactct gccacaaaat cggcgagagc 25440  
 ctggctcttg atagcgtggc gtggttcaaa gtgcaaatcg aactcagaaa gttcgattgc 25500

ccatttcacc acccgctcctg taccgtctcg attatgcaag atttgaccga ggggtaaga 25560  
 cgtaaccaca gtgacccgat ggcctggaa ataatggcgc agtttcctcg aggccatcag 25620  
 aatagcgtaa agcatcttct gggcctgagg gtatcgggtt ttggcgctcc ggagggcctc 25680  
 actaacaag tagacgggcc gctgcacctt tcggtggggc cgatcctctt cgctaggggc 25740  
 cgcatccctg gggcactctt cgtccaagca gcctcgcggg gcgcacttgt cttctgtgct 25800  
 gatgacctcg gggtcggagg ataacagggg cggccttccc acagtggctt tggggccgctc 25860  
 ctgggggtca ggggctcctg gcgtcgtcgg acaagcgggc aaaggccaa ctccggctcgt 25920  
 caggggcctt aggcctccgt tcggctcggg ggcctcttct ccctgctctt tcccgggtcg 25980  
 agtcagcaca gggttagcct cggggtaaaa gggcgatagg tgcggccttc ccacagtggc 26040  
 ctgagggcct tcctgggggt cgggggctcc tagcacgctc tgacaagcgg gcagagggcc 26100  
 aactccggctc gtcgggggcc tcgggccacc gttcggctcg ggggcctctc ctccctgctc 26160  
 tctcccgggc caagtcggca cagggtgggg aagcgcgaaa tgagaattgt cctcatcgcg 26220  
 ctccacaacc aatgccgcac taactacttg cggggtcgcc gctaagtaga gtagcaagg 26280  
 ctctgtctggc tccggggcga ccagaactgg gggagagctt agatacgctt tcaactgggt 26340  
 gagggcattt tcagcttcct tcgtccaggt aaacggctcg gagcgtttga gaagcttaaa 26400  
 taagggtaac gccttctctc ccagcctcga tatgaaccga cttagggcgg ccatgcaacc 26460  
 ggtgacgtat tgcacatccc taagtttgct gggggggcgc atccgctcta tagcccgtat 26520  
 cttctcgggg ttggcctcaa tgccccgggc agagaccaag aaccgagaa gcttgccgc 26580  
 aggtacaccg aacacacact tatcgggggt taattttatg cgggcggagc ggagactctc 26640  
 aaaagtttc gctagatcta tgagtaacgt ttcctggttg gcgctcttta caaccaagtc 26700  
 atcgacataa gcttcaatat tacgtcctaa ttggctaccc aaagaaattc gagtagtacg 26760  
 ttgaaaagta ggacctgcat tctttaacc gaagggcatt gtcgtataac aataggttcc 26820  
 tatgggggta atgaacgcag tttttctc atcctcccta gccatgcga tctgatggta 26880  
 accagagtat gcatctagaa aacacaaaag gtcgcacccc gcagtggagt cgacaatctg 26940  
 atctatgcga ggcagggggt aaggatcctt aggacatgcc ttgttaaggc cggtgtagtc 27000  
 gatgcacatc cgaagcttgc cgttcgcctt gggaacgacc accgggttcg ctagccactc 27060  
 ggcgggggtg acgctgcat catatttttc ggcgatggtg ggccggaacc ttgggggcca 27120  
 acggacattc cgaagactcg ccacaaaggc tctacagccg acaccaccaa ccgggggcac 27180  
 ggagggtga ttcccgcgtc cgtgttgagg tgacactctg gacgaggaag cgccctccgt 27240

tgcgtgggca gcacttcggt cattacgccg gcgctcgatg ctggtgcggg cgtccggccc 27300  
cccacgcaga tctttctggg tcgaaggagt cgacgaagga gtggcggccg aatggcgaac 27360  
agcggctgcc gctcgtcgtg ccctccgtct tgacgacgcg gagccggtgg tagcagcacc 27420  
agaggccttg gtggcggagg accgccacc agcatctagg cgctgccgta ccgtcatgac 27480  
taatttgcc acgtcgtcca gccatcgttg ggctggagac tccgggtcag ggacgacagg 27540  
cgggtgacgt aagagcgcgc ccgcagcttg gagcgcgccc tggggcgtgc tgccgtcgcc 27600  
gtagacgagg aggcgacgct ccccatctcg ccgtttctt ccatcgcccg cgatcggtga 27660  
agtgcggat ctttcgacct tctcgagcgc ctccccgc ttaggacttt ggctggagg 27720  
gagcgggtga gtacgagctc gacggcgttg gttcggctcc ccgtcgtcg cactcacact 27780  
cggagagagg tcgtgcgcct ttgcttgctc ggccatcagg ctgaacagga aaagcttggc 27840  
gcacacggaa gactacgaga gctcagaaaa acacacactg agtcccctac ctggcgcgcc 27900  
agatgacgga gcgtggggct cctcaccggg agaccgcga gggccccctt tgccggttcg 27960  
gccggggact cagggtgaaa ttctaagctc tctgtatgtg gaaggttcg gaccgtcgaa 28020  
agagcataag acacgggcga tgtatacagg ttcgggcccgc tgagaagcgt aataccctac 28080  
tcctgtgttt tggggggatc tgtgtatgaa ggagctacaa agtatgagcc agcctctccc 28140  
ttgttctggg ttccgaatct ggaaaagtcc agtccagtcc cccctctaa gtgggcaagg 28200  
tcctcctttt atatcttaag gggataccac atgcaccatc tccctccttt ctgtggggac 28260  
ttaccctacc ttttcataaa tggacggaga tttgtatagt tgccgtccga atgaccttct 28320  
gataggacgg ccataccta cctccacttc cgccgaaagc aggtgcgacg tgggattatg 28380  
gctgtctgct gacgacatga ccagtgtcag actggtcaca aattgctcat tcctgtccac 28440  
cacgcgtcag tttagcaatc tacatgttgg cccttcttca cacaacatct tgcctgtaat 28500  
ggttaggatg aagcctggca tatactaac caggactaac gtgccatctc taggaggtaa 28560  
cacgctagct ccagctgggg acgagcgctt agaagccctc gtcctgacgg gatggggcga 28620  
ggcgtgcgtc agatgcctg tcgccaccta acccgcgatc tgaccggtct gtgactggtc 28680  
acagaccgga taaacgagt cactgcactt cgttacatgc ggcgtgacac gctcagccaa 28740  
accgcaataa atgtgggttag gtgagccccg ctgtgctcac ctaaccata cacgcggagc 28800  
aaaaaccac gaggggtcgg ggcgcctcgg ccctcggggc cgaggcgggt gcggtccgac 28860  
cccctcgggg ggactaagag gagggcgaac acatcaccct cgggcccgcac gtccccgag 28920  
ggtgccaggc cacgtgggcg attgtgtctg cctcaaact ctagtcatga tactcctgat 28980

cccatgtcat cgacaaggcc atccgaatgt attaaggagt aaaagttaca agaaaaaaca 29040  
 ccacaatgca ccaaggtgca tgaccacaca ccatacacta cccccaagca caaaccactg 29100  
 aggggtgaagc ctagcaccaa acgacccgcca ctaagtgtga ccaaacgccg ctaggcctac 29160  
 ggcagcaaca catagatgag acttcgaaaa cgatgccacc aaggtggtca cgacatgtag 29220  
 gatgctgcca tcgtccatct aaaaagatgt ggttttcacc cagagaaact catcaagaag 29280  
 gggagaggggt aacccttgac agcgcccca ggaggttacg acgcccgaag gcgtagccgc 29340  
 tgccgggtccg gtgaaccacc ggactaggct tccgcctagg accctatagc cttgatcgca 29400  
 gatcaccgtc caccactcag aaccaccaca cagacaaaag gtagcacgta gcttccaccg 29460  
 caccgcaccg acgccccttc gtcggccgac tccatcgaac caccatccct gagagctggc 29520  
 ccaggacccc tccgttccac caccgcgagg ccgccttgcc agttttggcc aaaggagaac 29580  
 ccgggactgg gtgacattgc ttcggcagcc tgagcttccc ccgctggcga gctgctgtct 29640  
 caatccaacc tagaaactcc ccgcaaaaaga aggggatgag ctctaggaag ggcgaggggtg 29700  
 ccgaccggca acgaggaaga caaccatcg actccagctc cttttgact accatctggg 29760  
 cctgcgcaa tgccggatac gctgtcgctc cggctccggc gccaccacc tgcacccct 29820  
 ttgcctggtc tccgcgcccc tcttggtgct gtcgcgccc ccagctggcc gctaaggga 29880  
 ccacgacggc cgcccggtta ccgaggcctg gccgcgccat gggacagctc gcgctggcac 29940  
 cagcgagcca cggccgtcgc gctgttgccg gcgccagcga gcacaaccgc cagctccaag 30000  
 ggccgagcat gccactgagc cgccgccgct gccgccggg ccggctgcac gtcaccggcg 30060  
 cacacgaccg cacgccgcca cgctccgcct ccgcgcccga ggcagcccca tgccattgcc 30120  
 gcgcacctcg cccgccgct gccgagccgc caccgcgcac cttgctgagc cgccaccgcc 30180  
 gtccctagcc gcctcgtgcc gccgccacgc cagatccagg cgcgggatgg ccgatccgg 30240  
 ccttgggggc gccggatccg ccgcctcccc acaccgccac ggcgtcacca cctccgaccg 30300  
 cagtgagggc ttcgtcgttt gccccatcct catcgctcg aggaggaaga cgccaagaaa 30360  
 aaagggcctc gccgctgcct tcttgctcg ctgccggctt cgccgccggc gagctccggc 30420  
 ggcggcgagg tgggggagaa gaagtgggga gtgggcagct agggtttttt cgcccccaa 30480  
 gccgccgtg cgagagcgac ggtggggggg gggggacttt ccaacctctt ccagtgttct 30540  
 agttctccac gttatgtaac tcaatttggt taaccataga aagtaagaaa cctaccagcg 30600  
 tgtaaagctc tctttcattc cttttcttct tcttggtttt gcttccatca catgtcaagt 30660  
 gaagggttct taactacat tactctaca catctaattt ttttctcaga tctttcgag 30720

gtatatattg atgctacatt ttatgatctt aagataatct ccttcacatt accctctgct 30780  
 gaaacttttag cttgaaccgt catcttcacc acaatttgag cccaatttgc acagagcaca 30840  
 acgagcaata gcttgccctt acgttcatta tttagcatga actactacta actaccaag 30900  
 aatcaatata ccggtttaat aacgccattt tatcacgtta atatatgttt cattcaacac 30960  
 accggttttg gcacagttgc aaacttgcaa taaattcttt cctacttctc catcccataa 31020  
 tataacaaat tggatatgtc cgtctggtac taagttgcta tattatgaga tggagggagc 31080  
 acttcttttc ttccaaaata taagaatata gtattggatt agatattatc tagattcacg 31140  
 aattcgatta ggttgtctag atttatagtt gtatgtaatg tataattcgg taataggtta 31200  
 ttacctctcg ggatggaggg agtagttttg actttttttt ttcttataaa tcgctttgat 31260  
 ttttatatta gtcaaatttt atcgagttaa actaagttaa tagaaaaaaa ttagcaacat 31320  
 ttaagcacca cactagtctc attaaattta gcatggaata tattttgata atatatttgt 31380  
 tctgtgttaa aaatgctgct atatttttct ataaacgtag tcaaatttaa ataagttaga 31440  
 ctaaaaaaaaa tcaaacgac ttataatatg aaatggagga agtagtagac tataacaaat 31500  
 ttaaaccgtg ctttgatttt agagcatcac taatatgita gcaataatct atccctaaaa 31560  
 tttatttttt ttctaaact gaaaatagga agtggaata ctctccatc taagagagag 31620  
 cctaaattca ataaaaaact aaaaaactaa aggtggatcc ctctattaaa ctaccgcaa 31680  
 aaatttatgt ttttttctc ttccacgcgc gcagaacaga tatctcgatc aagttagcat 31740  
 gtaaaatttt taaagagata cttatacga ctcttccgt atttccaaaa gcaaaccgat 31800  
 ttaaaatctg actcaaataa agatctatat atccaattta catgacacat gtttcgccga 31860  
 atttttatat taataataat taatatTTTT aaaattaaat tattagcaat ttgtttggag 31920  
 gatttatcaa aacaggatgg acgttgttta taacagcgtc tagacctaga cgcgcttgca 31980  
 aactgcggcc acccttttat cacacaaatt ttgacaatt tgacactttc caaaaattaa 32040  
 ttttataaat taaccgtgac caaaacttat ttaaaaataa tctttttgtt gagcgcaaaa 32100  
 tcgtatactt cagcgccaaa tagcacggcg ccgacctccc cttccccctc ccctctatcc 32160  
 tccactgctg ccgcccacct ctccgtatca gctgcgtcgc gttggtttcc gccggcgctg 32220  
 ctgctgctgc accagtccgc tagggcgggc gggcatggcg cgccgcgccg cttcccgcgt 32280  
 ccgcgccggc gctgttggcg cccttcgctc ggagggctcg acccaagggc gagggggccg 32340  
 cacggggggc agtggcgccg aggacgcacg ccacgtgttc gacgaattgc tccggcgtgg 32400  
 caggggcgcc tcgatctacg gcttgaactg cgccctcgcc gacgtcgcgc gtcacagccc 32460



cgcgccgcc gtgtcccgct acaaccgcat ggcccagacc ggccgacg aggtactcc 32520  
caacttgtgc acctacggca ttctcatcgg ttctgtgtgc tgcgcgggcc gcttggacct 32580  
cggtttcgcg gccttgggca atgtcattaa gaagggattt agagtggacg ccatcgctt 32640  
cactcctctg ctcaagggcc tctgtgtga caagaggacg agcgacgcaa tggacatagt 32700  
gctccgcaga atgaccacg ttggctgcat accaaatgtc ttctcctaca atattcttct 32760  
caaggggctg tgtgatgaga acagaagcca agaagctctc gagctgtctc aaatgatgcc 32820  
tgatgatgga ggtgactgcc cacctgatgt ggtgtcgtat accactgtca tcaatggctt 32880  
cttcaaggag ggggatctgg acaaagctta cggtagatac catgaaatgc tggaccgggg 32940  
gattttacca aatgttgta cctacagctc tattattgct gcgttatgca aggctcaagc 33000  
tatggacaaa gccatggagg tacttaccag catggttaag aatggtgtca tgcctaattg 33060  
caggacgtat aatagtatcg tgcattggta ttgctcttca gggcagccga aagaggctat 33120  
tggatttctc aaaaagatgc acagtgtgg tgcgaacca gatgttgta cttataactc 33180  
gctcatggat tatctttgca agaacggaag atgcacggaa gctagaaaga tgttcgattc 33240  
tatgaccaag aggggcctaa agcctgaaat tactacctat ggtaccctgc ttcaggggta 33300  
tgctacaaa ggagcccttg ttgagatgca tggctcttg gatttgatgg tacgaaacgg 33360  
tatccaccct aatcattatg ttttcagcat tctaatatgt gcatacgcta aacaaggga 33420  
agtagatcag gcaatgcttg tgttcagcaa aatgaggcag caaggattga atccggatac 33480  
agtacctat ggaacagtta taggcatact ttgcaagtca ggcagagtag aagatgctat 33540  
gcgttatattt gagcagatga tcgatgaaag actaagccct ggcaacattg tttataactc 33600  
cctaattcat agtctctgta tctttgacaa atgggacaag gctaaagagt taattcttga 33660  
aatgttgat cgaggcatct gtctggacac tattttcttt aattcaataa ttgacagtca 33720  
ttgcaaagaa gggagggtta tagaatctga aaaactcttt gacctgatgg tacgtattgg 33780  
tgtgaagccc gatataatta cgtacagtac tctcatcgat ggatattgct tggcaggtaa 33840  
gatggatgaa gcaacgaagt tacttgccag catggtctca gttggaatga aacctgattg 33900  
tgttacatat aatactttga ttaatggcta ctgtaaaatt agcaggatgg aagatgcgtt 33960  
agttcttttt agggagatgg agagcagtgg tgttagtcct gatattatta cgtataatat 34020  
aattctgcaa ggtttatttc aaaccagaag aactgctgct gcaaaagaac tctatgtcgg 34080  
gattaccgaa agtggaaacgc agcttgaact tagcacatac aacataatcc ttcattgggct 34140  
ttgcaaaaac aatctcactg acgaggcact tcgaatgttt cagaacctat gtttgacgga 34200

tttacagctg gagactagga cttttaacat tatgattggt gcattgctta aagttggcag 34260  
aaatgatgaa gccaaaggatt tgtttgcagc tctctcggct aacggtttag tgccagatgt 34320  
taggacctac agtttaatgg cagaaaaatct tatagagcag gggttgctag aagaattgga 34380  
tgatctatct ctttcaatgg aggagaatgg ctgtactgcc aactcccgca tgctaaattc 34440  
cattgttagg aaactgttac agaggggtga tataaccagg gctggcactt acctgttcat 34500  
gattgatgag aagcacttct ccctcgaagc atccactgct tccttgtttt tagatctttt 34560  
gtctggggga aaatatcaag aatatcatag gtttctccct gaaaaatata agtcctttat 34620  
agaatctttg agctgctgaa gccttttgca gctttgaaat tctgtgttgg agttcttttc 34680  
tcctacagtt gtattagagg agggatcttc tctttatgtg taaatagcga ggtatgtatg 34740  
tcacctctcc gaattatctt tactctgggt cctagacggg aaacaagcaa ttatgttctg 34800  
cctttgatgc cagaaaaaac acaaaagttt gtcgttatct ctactaacgg atcataaagg 34860  
aatttgtaac tggagtttca aacttaattt gtctaggcag tagttttggc attagatcca 34920  
acattgtgta ggattcattt gtgtgtatca atctataggg tttcattaaa tttcgtaaat 34980  
gtgtactgtt taggtgttga atagtttgac ttgtttttta actgaacaaa agatactgaa 35040  
atcgttccat tcaacaacaa catgttccgt taatgaaatt attgtacgtt accttttgtt 35100  
ttcttactca caagtgtcct cttttcttat atcctataga ttggtacaac aaattattga 35160  
ttcaattttg gttttgaaca ttgatgatcc tccctgcact attggtgcag ctgctcttct 35220  
attcattttg tgaagtgatg tgagtacctc tcaatcccat ccttatgctt ctgtgcatgc 35280  
ttcattccaa ttttttacgc atatcgattg ttttctttta tataacagtc cataaagata 35340  
atcacatcat gacaaagtta tttatttcta cagtatagtt atataagtat tcaccagttt 35400  
tccatgaata ttttggcatg tgattacaaa gaagattatt tgagaaaatc catgctttta 35460  
tttcatcttt ttgtttgaag ttgaacttta atttatggtg taaatttcag ttattattgc 35520  
tagcagctcg tactctttaa tgggtataact tcacttgtgc ttattctcca atatctccct 35580  
tcttgttggt caggttcaag aaaatcattt gttggattca gaatctggtg tccattttct 35640  
tcttaaatta ttaaactctc cagtgaatct tgttgattcc aaagcaccat cgatagggtc 35700  
caaacttctt ggaatcagta aagttcaaat gcttaatgga tcaaataagg attctgactg 35760  
catttcagag gaaatccttt caaaagtga agagattctc ttaagctgtc aagtgatcaa 35820  
gtcgctcgac aaagatgaca agaaaacaac aaggccagaa ctgtgtccaa agtggcttgc 35880  
tttgttgaca atggaaaatg catgcttgtc tgctgtttca gtagagggtg agttttaatc 35940

aaatttcttg gtcattgattt ccctttatga ccattatatt tatttatatg agccaaataa 36000  
gcagttgtca acttgtcata agttacatag cacctatttg caatattcat ggggtggttg 36060  
cttagccctt ttcttcacct gcttttgatt gatgacttcc atctgtgttg cagaattgaa 36120  
ttggagtagt ggactgcact agaagcacct atggccattg tcatactagg aaggttttcc 36180  
cttatcaaatt atttgattgt tacagagact tctgacacag tgtccagagt tggaggaaat 36240  
tttaaagaga cattaaggga gatgggaggt cttgatagta tttttgacgt tatggtggat 36300  
tttcattcaa cattggaggt gagatctcgc taacatcgca tattttacat ttcctttgtt 36360  
caactctaatt ggattgtgca ggcttgttcc ttttcgccat tttagcttta atgtgcttga 36420  
agccacatga aagtaatgct tgtccagata catagccaaa ggttgttata ttttggggca 36480  
tggaataatgc ttgaggtagt aactattttc atcaggacat ggaaaattgg ctgcaacaca 36540  
aattatgttg ttttatgttg caaaaatagt tttttaatac tttttattc tgcattgtgt 36600  
gttagtatct tacagttcct ctgatgatta tatccccac gataataaca cttgaaacga 36660  
taataacact tgacatatct acaccaagtg aacattattc atttggatgt tacttttcca 36720  
gctatacttg ctgttcttgc atgtgtaagc aagtttggag taaattgcgc attaatataa 36780  
atgcttgggtg ttcctatctg tgtactttt attccccaac taataatgca atcatattac 36840  
gctgataaac tgaataaata aattaacaat atacttctgg tggcaaacct tgtgtatcag 36900  
aatctcataa aggatacatc cacttcagct ttggaccgaa atgaaggaa atctttgcaa 36960  
agtgtgtctc tcctcttgaa atgtttgaaa atattggaaa atgcatatt tctaagcgat 37020  
gataacaagg taatgtcct tatatgttct gtttcagttt agtaccatt tccttcttct 37080  
gtactatctt ctctctgat ttgttctgtg caaatgtgc aaacagtgcg actttgtatg 37140  
tctgttaac aattttcttt tcttctgaa aaagcaatat gaactcttac attcattttg 37200  
cttcttgacg acccatttgc ttaatatgag tagaaaattg aaccggaaac gtccttgct 37260  
ttcttttgtt ggtgtcatta tcaatactat tgagttatta tcaggtattt ttcttaataa 37320  
tacaatgtgt tcgctaacac aataaaatgt tttaaacatc cagtatgtta aagttgcagt 37380  
ctgacgccta ttttgttttg ctgcagctct ttcaatactt cagaattctt ctgttgtttc 37440  
cagctctaca tatccgaaat cgtctaaagt ctctcaacag agttactctg gtaataacaa 37500  
acaccaattt tgtttgatca gttgatctcg ttggcttttc tatgcactgt ctcaatatag 37560  
tttggtcgcc attcaagtct cactacagat gttgaacttg gcctgacacc aaatatttat 37620  
aaaatgctac ctgatatttt taatatttca tgtttcctga cccagattat cttgttggtt 37680

cctcgtataa gtttaattag tgacattctt gaagctttgt tatgcagcag atgtcatggg 37740  
gggaacttca tttaatgatg gaaagagcaa gaactcgaaa aaaaaaaact tttgtcgaac 37800  
cagacacgtc attgttgctt atcttcaaaa tcagaagttt ctcatattac tatactttct 37860  
ggtagtgatg ctggctctgtc acagaaggca ttcaattggt ctccatttat atcaagcaat 37920  
ggggcatcaa gtggttcatt aggcgagagg cacagcaatg gtagtggttt gaagttgaat 37980  
ataaaaaagg atcgtggcaa tgcaaatcca attagaggct caactggatg gatttcaata 38040  
agagcgcaca gttctgatgg gaactccaga gaaatggcaa aaagactccg tctatcttaa 38100  
aatgtaatca ccgacagtgg tgggtggtgat gacccttttg catttgaccg ccgctcggc 38160  
gtcgccacca cgtaatcgcc cacgtcgtg ccccgctgc cacgtcgtc accggcacg 38220  
gtaatcacac gcatctcgag gccgccgcta gctgatattt tctcatccgg ttgatttgtg 38280  
attttggcgt ttttcagtgt gtgatggcgg gggcgaccg tggccgaggc gtggagtgc 38340  
atccgcatca ggggtgtatc gccgcgctgc tccgccctgg tccgcaggct ttggcggcga 38400  
gctggcggcg gagggagact gtggtgagat cggatttcgc cgctggtggt gtcgctacca 38460  
tgggggattc gccgcaggcg ctctcagggt tgcagcctcc tccactctct tccctttttt 38520  
attttttttt ctgcataaat gtgttggtgat gttcgtctcg ctgggcaggc ctcatagcca 38580  
ttaatgtagt ttgctggaac atttacattt ggaacgttgt tggcaattgc ttgacataat 38640  
gtggaattgt ggaggggaga aaaatcattt gaacctgcag tgacataatt gccatctcta 38700  
atttttaaac tgaagggtgt gaaatcaaac ataactattg ccagcgcacg attcttgta 38760  
accaccatga tatattgttg gttataacag ttagctccac accaaccttg aagggtgcaa 38820  
tagaatgttt agtataaatt gaggagaaca ggcagttggt aagactttct aaagaacttg 38880  
tagcagctaa tactagctat tgtgcatttg tgtttcatgg aatttgagca gcaatggata 38940  
tttcttacta agatgtatga tgcaaaacaa aaaactatgt ctatacagtt tacatgtaat 39000  
gtgcggatgc aaataaaatc atgtacatgg acaaactcat gggattcata ccgaattcca 39060  
gaattgcatt tcttatgttg ttacttttgt tgttgatttg gttaccagac atcgatgtga 39120  
tttcaagggt cagaggggtt tgcttctacg cggtggctgc agttgcagca atctttttgt 39180  
ttgtcgccat ggttgtggtt catccacttg tgctcctatt tgaccgatac cggaggagag 39240  
ttcaggaaaa aaatttgaaa ataccattt tttgaaaaag atttacgttt atatacacta 39300  
gtatgaagaa tttgcgaaaa tataactaat ccgcagatcg gttatgcggg agcgcaacaa 39360  
aagtatggcg tggcggcgcg gagtggacgg ccgaggcggt cgcgcggaat ggggctgcgg 39420

gaccgagcca gtctcgcttg ccggtaacgc ggaaccggtc cgctcccgca gcgccagtgt 39480  
 gcggaaccgc ggcgccaaca tttttttact gcatggcact gtgtttaata ctgtttgaca 39540  
 ctgtttctgg tactgtttta cacagttccc gggtcagttc cgcacaatgg aggcgcgcca 39600  
 ccgaccatga acaatgtgtg aacagtgtg cacagggtta aaacagtgtg taaactgcgc 39660  
 tgcacagtgc tggagtcgct ggccactgcg gttccgcgtt ttggaaccgc gggaccgtcg 39720  
 cgattccgcg ttttgagct gccggacat gacggttccg cgcaggatcg tcggtcccgt 39780  
 attttgaatc tgcggaaccg tcgtgtccc gcgtttccgt ttcgcgggat gcgtatatatt 39840  
 ttataaaacc tctccatgca tgtatataaa cataaattat tgaaaaata agtatatttg 39900  
 caaatTTTT tgcagagctc agcactacat tgcaaagatt tgggcaactc tgacaatttc 39960  
 catgttctac aagcttgacg tcgagggaat ggagaacctg ccaccgaata gtagccctgc 40020  
 tatctatgtt gcgaaccatc agagtttttt ggatatctat acccttctaa ctctaggaag 40080  
 gtgtttcaag tttataagca agacaagtat atttatgttc cgaattattt gatgggcaat 40140  
 gtatctctta ggagtaattc ctttgcggcg tatggacagc aggagccagc tggtaggtgct 40200  
 gtagtctcat ccctgctttc ttaagtagac atatatgcaa ttacagaatt tggtaaacaa 40260  
 acaagatttt atgaatcata tatgattttg gggaaaacac caaactctct ttggtggctg 40320  
 ccttgaacat agttctattc acacagttat agcaccttct ttaaaatgaa gaactttgtt 40380  
 gcatacacat atggccaaac cacataatga attttgttta tttctatctt tgaatgttag 40440  
 caccttattt tcatgcatat catgctaatt tgcttgccca cgttgagtgg gaattttttt 40500  
 ccatgtttta taatttatat atgttctaga cttctagtcc acaatttatc tacttcatgt 40560  
 tcctgagcct ctagtatggc tggtagcaga ctaggtgctg agtgctgtcc atttttgcag 40620  
 actgaagaga ggagaaatac aggactgtcc gttgttagtc agatttgtaa aaatagactc 40680  
 tgatgtagtt tattttagcc cctattttat atttaacaat acaaatatat aacgtatcct 40740  
 aagaacttat cgtaatttag gagaagttgc tcgtttcatt aaattaaact gtgaagtaaa 40800  
 aatgtgtgct cgagtctgtc aatgcaatcc tgtgttcttg tttgaagata tgggtgtaggg 40860  
 caggctagga tcgaacactg aatggtaaga ctgcttctgc cttcatttgt gcacttggtg 40920  
 ctgccacgcc gattaagcag tagaaciaag taattttgtc gtgcacaaat gagttatatt 40980  
 tcattgaaaa tcgaagtga aatgaaccaa aagatagaag aaaaggggaa acttggtaat 41040  
 tatatactcc acaaatttat tggtaagatt tgatattaga cgctcgatta cttggcttaa 41100  
 gttaaggata tcaaatttgg ggaagcacca aaggaattat tgtgaaggag ttgtgggtgc 41160

ataacgttat ctactaggtt caaatcctag tgactatgaa tattaatgag taaggtaagg 41220  
 gatttattgt taatttttagt ttctttaaga ttgtgtccgg gtacaccatt cggtaagtgt 41280  
 aataatgttt tgtattggat tcacttgtgt tacgtgcatg tgatttacct ttccatttgt 41340  
 ttctgcgttc tgggtatgaa ttigacgaga ttccatggtc agctcaacat atcagttact 41400  
 gcgtgtcaag cgatcttata tggatatgcgc acaagcgatt gtatacggat atgacagtat 41460  
 aacgtgtgat attgatacga tgttccttcc ctttataaag gaacaaagac ttttttaaaa 41520  
 aaaagaaggg gtattactaa aaaccaaaat gtcaaaaaca aaatatcagt gcacatggca 41580  
 agtgtgcacg agcaatagct tgcccttacg ttcatatttt agcatgtact actactaact 41640  
 acgcaaaaat caattcaccg attattaaac tgtaacatc atttttagcac gttaacatat 41700  
 gtttcattca acacaccggt ttggcacat ttacaaactt gcaaagttgc aatactccct 41760  
 tcgttacata gcataagaga ttttaggtga atgtgacaca tctatccaaa ttcatatac 41820  
 tagaatgtat caccgcctcc acgccgggag ggagagcgcc gccggtggag aaagggggag 41880  
 ggagtggtcg aggggaacca gtagggtgcc ctccccgtcg ccgcctcccc gtggccgcgc 41940  
 cggcgagaca ggaggaagag ggggatatgg agcggcgccg ccggtgaggg cgcgcgcgcg 42000  
 ggggggagcg gcgacgccgg tgaggaaggg aaggggagtg gtggctttga gagagatagg 42060  
 ggggaggaaa aatgatttta gagttagggg ttgggctgct gagtttttat atagatcggg 42120  
 atcaatcagg accgtccatc agatcggaca actacggctt ctcccgctt gggccgggtg 42180  
 ccactcctag gttgccaca ctattgggcc acatgtacgc tccgcgtgaa ataagttcac 42240  
 tttaggtcct ttaagttgcc tctgaattgt tcccaggccg gccgcactat tgggccaccc 42300  
 cataggccat gtgtacgctc cgcacagaat aatttcgctt tagctccctt aatttgtccc 42360  
 ctcaaactcc taaaaccagt gcaaatcttt aatttttagt tcacccattg caactcacgg 42420  
 gcatatttgc tagtgacata taatatgaaa cgaaggatgt agcagactat agaatttaaa 42480  
 ctgtgcttcc attttagagc atcactaact gttatttaga tttttattta aataaatgct 42540  
 gaaatgatgt ttttattatg aaaattagca ataaagctcc caaaatttca aaaaaaatt 42600  
 aaaagagatt tattaatcat ggtaattta attaaaaatt aaatctaacc atatcatatt 42660  
 atttcacggt ccgtgatgag gaaatggcag ctgctatcac ttacgggtggg agagaagggg 42720  
 cattgtttat ttttataact atctcttata actcccatga aactataaaa taaatataat 42780  
 cattatcata acattagttt tttttccatt gcaacgcaag ggtaattttt cagtacaata 42840  
 aaaaaataa aagtgggcca ttctgaacgg aaatttctgg ttttttttcc caagagcgcc 42900

gcacacaact gcgcaagaga tcgatcgcg tcaccctgct cgtcgccgat ctctacacc 42960  
atccctgcc a tctccttccc ctccactggc tgctgctgca cctgtcagct agggcgggca 43020  
tggcgcgccg cgccgcttcc cgcgctgctg gcgcccttcg ctcgaggggc tcgatccaag 43080  
ggcgaggggg ccgcgcgggg ggcagtggcg gtggcgcgga ggacgcacgc cacgtgttcg 43140  
acgaattgct ccgtcgtggc ataccagatg tcttctccta caatattctt ctcaacgggc 43200  
tgtgtgatga gaacagaagc caagaagctc tcgagttact gcacataatg gctgatgatg 43260  
gaggtgactg cccacctgat gtggtgtcgt acagcaccgt catcaatggc ttcttcaagg 43320  
aggggggatct ggacaaaatg cttgaccaga ggatttcgcc aaatgttgtg acctacaact 43380  
ctattattgc tgcgctatgc aaggctcaaa ctgtggacaa ggccatggag gtacttacca 43440  
ccatggttaa gagtgggtgc atgcctgatt gcatgacata taatagtatt gtgcatgggt 43500  
tttgccttc agggcagccg aaagaggcta ttgtatttct caaaaagatg cgcagtgatg 43560  
gtgtcgaacc agatgttgtt acttataact cgctcatgga ttatctttgc aagaacggaa 43620  
gatgcacgga agcaagaaag atttttgatt ctatgaccaa gaggggccta aagcctgata 43680  
ttactaccta tggtagcctg cttcaggggt atgctaccaa aggagccctt gttgagatgc 43740  
atggtctctt ggatttgatg gtacgaaacg gtatccacce taatcattat gttttcagca 43800  
ttctagtatg tgcatacgct aaacaagaga aagtagaaga ggcaatgctt gtattcagca 43860  
aaatgaggca gcaaggattg aatccgaatg cagtgcaccta tggaacagtt atagatgtac 43920  
tttgcaagtc aggtagagta gaagatgcta tgctttattt tgagcagatg atcgatgaag 43980  
gactaagacc tgacagcatt gtttataact ccctaattca tagtctctgt atctttgaca 44040  
aatgggagaa ggctgaagag ttatttcttg aaatgttgga tcgaggcatc tgtcttagca 44100  
ctattttctt taattcaata attgacagtc attgcaaaga agggagggtt atagaatctg 44160  
gaaaactctt tgacttgatg gtacgaattg gtgtgaagcc cgatatcatt acccttggca 44220  
ggtaagatgg atgaagcaat gaagttactt tctggcatgg tctcagttgg gttgaaacct 44280  
aatactgtta cttatagcac ttgattaat ggctactgca aaattagtag gatggaagac 44340  
gcgttagttc tttttaagga gatggagagc agtgggtgta gtcctgatat tattacgtat 44400  
aacataattc tgcaaggttt atttcaaacc agaagaactg ctgctgcaaa agaactctat 44460  
gtcaggatta ccgaaagtgg aatgcagatt gaactttgtt agatttaatt ggataattaa 44520  
tccatttaaa tcaattaaat caaataaatt ccaaggctca ttatgctagg aattcatgtg 44580  
aattcattct tctatgggat atcaatggga tgaagagttt tgagaattaa tccatttgat 44640

taaggaattg gtaacttata tcaattaatc ctaattgatg gatggttgat ggttgtgtag 44700  
tggaggatgg ttcattggcta gttgatgaca attagttgct ctattcctct tcctattcca 44760  
ttggtaactt acatcaatta ctcttaattg attgttgggt gatggttgtg tagtggagga 44820  
tggttcattg ctagttgatg acaattagtt gctccattcc tcttcctatt ccatgactct 44880  
tactcttcat cttccattcc tcttataaaa tgagaatgga tttgatctcc cgcgagaaga 44940  
agaagacaca ctttcatcca ttttcaaaag ctgttgctgc tacggtaatc ccatcccgac 45000  
gagtgtgtgc acacgcgttg ggagagtagg cctccgaaac cacgcgttg gcgcgactac 45060  
gcacagacgg gcgggcatc aggttttttg ggagcgcaag gcgcgactac tcaactgttcg 45120  
tcaacatcta cttcatcttc accaactgtt cgaacactgg agacaaggag aaggagactc 45180  
ccgtcaacac caacggaggc aatactgcct caaactccag cggaggacca ttcttggggt 45240  
ataaccttat tacattattt caattagaag ttttactgtt aatgttcatc gcaatgtcaa 45300  
cattgtgtca ttatgtgatt gttgatgctt attcaacgtt aagcatgctc atgttgatta 45360  
cattcaccac tatcactgga tcaaactcta ttgtaaatat catgtttatt atcttgttat 45420  
tttggattaa aatatgccga attatgacca aatttccaac aaacttagca catacaacat 45480  
aatccttcat ggactttgca aaaacaaact cactgatgat gcacttcgaa tgtttcagaa 45540  
cctatgtttg atggatttga agcttgaggc taggactttc aacattatga ttgatgcatt 45600  
gcttaaagtt ggcagaaatg atgaagccaa ggatttgtt gttgctttct cgtctaacgg 45660  
tttagtgccg aattattgga cgtacagatt gatggctgaa aatattatag gacaggggtt 45720  
gctagaagaa ttgatcaac tctttcttct aatggaggac aatggctgta ctgttgactc 45780  
tgcatgcta aatttcattg ttagggaact gttgcagaga ggtgagataa ccagggttg 45840  
cacttacctt tccatgattg atgagaagca cttttccctc gaagcatcca ctgcttcctt 45900  
gtttatagat cttttgtctg ggggaaaata tcaagaatat catatatttc tccctgaaaa 45960  
atacaagtcc tttatagaat ctttgagctg ctgaagcatt ttgcagcttt gaaattctgt 46020  
gttgaattc ttttctccta cagtccgatt agaggaggga tcttctctgt atgtgtaaat 46080  
agcgaggtat gtatgtcacc tctccgaatt attttgactg tggttcctgg actgtaaaca 46140  
agctattatc ttctgggtgt gatgccagaa aaaacacaaa agtttgtcgt tatctctact 46200  
aacggatcat aaaggggtt gtaactggag tttcaaaact aaggtatcta ggcagtaggt 46260  
atatattgat cctacatctt atgatcttaa gatgatatcc ttctcattat cctctgctga 46320  
aactttagct tgaaccgtca tctacaccac aatttgagcc ccttagcaca gagcacaacg 46380



agcaatagct tgcccttacg ttcattatit agcatgcact actactaact acccaataat 46440  
 caatacatcg gttattaaac tgtttgtaca gtttaataat gtcattttat cacgttaaca 46500  
 tatgtttcat tcaacaccac accggttttg gcacagttgc aaacttgcaa taacattttt 46560  
 actacttctc cgccccataa tataacaatc tcgttccata ctatattgct atattacggg 46620  
 acggatgaag tacttctttc cttccaaaat ataagaatct agtcctagat tagatattat 46680  
 ttggattcac gaatttgatt aggctatcta gattttagt cgtaatgtaat gtctaattcg 46740  
 gtaatagggtt attacctctt tggatggagg gagtagtttt tatttcgtac tccctctgtt 46800  
 tcatattata agttgttttg acttttttct tagtcaaatt ttattgagtt tgactaaatt 46860  
 tatagaaaaa aaattagcaa catttaagca ccacattagt ttcattaaat gtagcatgga 46920  
 atatattttt ataatatgtt tgttttttta ttaaaatgct actatatttt tctataaatg 46980  
 tagccaaatt taaagaagtt tgattacgaa aaaaaatcaa aatgacatat aatatgaaac 47040  
 tgaggatgta gcagactata gcaaatttaa actatgcttt tattttagag catcacaaa 47100  
 agagatagcc taaatcttat cttactaat taaaatattc ataattttcc tttcgtcaca 47160  
 ttaaattttc gtccgtaaatt ccgattgaaa tccaactaga caatccaaaa aatagagaaa 47220  
 aagaacagaa aaaataataa aaagcacaca aatcttatct caatcccgcg ggaagctgcc 47280  
 gatgccgccc aatccgctcg agcgcgccc cgcgctca cggggaacga tgcgctgct 47340  
 atcgacgtg gtatgggagg gcgcgcccgc cgctgcttg gagataggat atggagagag 47400  
 aaggaaatgt gagggagggt taggtttttc cccattcgta tcttcagcga cacggaggcg 47460  
 atccaagctg tccatcagat cagacggctc agaacgcctc catcttcagg ccgcgcatgc 47520  
 ttgatgggcc gagggaaggc cggagggtcg aacaaacgta gtcagaggag gagttggagg 47580  
 aggtaaagta gaatttatit gcgggctgag atagtaaatt gactgaaaat ggcccataga 47640  
 gaaattggga attttatit aataaatgtt gaaaaggtgt ttatattatc aaaattagaa 47700  
 attaagctcc gaaaatttta aaaaatattc aaagagcatt attaatcatg attaatitaa 47760  
 taaaaattaa atccaacat atcatattat ttcacggcgc gcagtaggaa aatgcgcagc 47820  
 tgttgcgct tacggtggga gagaaggac attgtttatt ttcagaacta tctttataa 47880  
 ctcccatgga actttaaaat aaatataatc attattatag cattagtttt tttctgtctt 47940  
 ttttttccc aagagcggcg cgcagaagag atcgatcgcg atctccctgc cccgacgtcg 48000  
 cgggccgac tctattctc tccacgccct gtcgctgcc gatctcctac accatccctg 48060  
 ccatctctc ctccccctc cctctatct cactgggtgc cgccacctc tccgtataag 48120

acaaactgcg ttgcggcggtt ggtttccgcc ggcgctgctg ctgcacctgt cagctagggc 48180  
 gggcatggcg cgccgcgccc cttcccgcgc tgttggcgcc cttcgctcgg acggctcgat 48240  
 ccaagggcga ggaggccgcg cggggggcag tggcgccgag gacgcacgcc acgtgttcga 48300  
 cgaattgctc cggcgtggca ggggcgccctc gatctacggc ttgaaccgcg ccctcgccga 48360  
 cgtcgcgcgt cacagccccg cggccgccgt gtcccgctac aaccgcatgg cccgagctgg 48420  
 gcgcgacgag gtaactcccc acttgtgcac ctacggcatt ctcacgggtt gctgctgccg 48480  
 cgcgggccgc ttggacctg gtttcgcggc cttgggcaat gtcattaaga agggatttag 48540  
 agtggaaagg atcaccttca ctctctgct caagggccctc tgtgccgaca agaggacgag 48600  
 cgacgcaatg gacatagtgc tccgcagaat gaccgagctc ggttgcatac caaatgtctt 48660  
 ctctacaat aatcttctca acgggctgtg tgatgagaac agaagccaag aagctctcga 48720  
 gttgctgcac atgatggctg atgatcgagg aggaggtagc ccacctgatg tgggtgtcga 48780  
 taccactgtc atcaatggct tcttcaaaga gggggattca gacaaagctt acagtacata 48840  
 ccatgaaatg ctggaccggg ggattttacc tgatgttgtg acctacagct ctattattgc 48900  
 tgcgttatgc aagggtcaag ctatggacaa gccatggagg tacttaccac gatggttaag 48960  
 aatggtgtca tgcctgattg catgacatat aatagttatt tcttgaaatg ttggatcgag 49020  
 gcatttgtct ggacactatt ttctttaatt caataattga cagtcattgc aaagaaggga 49080  
 gggttataga atctgaaaaa ctctttgacc tgatggtagc tattggtgtg aagcctgata 49140  
 tcattacata cagtacactc atcgatggat attgcttggc aggttaagatg gatgaagcaa 49200  
 tgaagttact ttctggcatg gtctcagttg ggttgaaacc taatactgtt acttatagca 49260  
 ctttgattaa tggctactgc aaaattagta ggatggaaga cgcgttagtt ctttttaagg 49320  
 agatggagag cagtgggtgt agtcctgata ttattacgta taacataatt ctgcaagggt 49380  
 tatttcaaac cagaagaact gctgctgcaa aagaactcta tgtcaggatt accgaaagtg 49440  
 gaacgcagat tgaacttagc acatacaaca taatccttca tggactttgc aaaaacaaac 49500  
 tcactgatga tgcacttcag atgtttcaga acctatgttt gatggatttg aagcttgagg 49560  
 ctaggacttt caacattatg attgatgcat tgcttaaagt tggcagaaat gatgaagcca 49620  
 aggatttggt tgttgctttc tcgtctaacg gtttagtgcc gaattattgg acgtacaggt 49680  
 tgatggctga aaatattata ggacaggggt tgctagaaga attggatcaa ctctttcttt 49740  
 caatggagga caatggctgt actgttgact ctggcatgct aaatttcatt gttagggaac 49800  
 tgttgcagag aggtgagata accagggctg gcacttacct ttccatgatt gatgagaagc 49860

acttttcct cgaagcatcc actgcttcc tgtttataga tcttttgtct gggggaaaat 49920  
atcaagaata ttataggttt ctccctgaaa aatacaagtc ctttatagaa tctttgagct 49980  
gctgaagcat ttgagcgtt tgaattctg tgttggaatt cttttctcct acagtcctat 50040  
tagaggaggg atcttctctg tatgtgtaaa tagcgaggta tgtatgccac ctctccgaat 50100  
tatttttact gtggttccta gactgtaaac aagcaattat gttatgctgt tgatgccaga 50160  
aaaaacataa aagtttgtg ttatctctac taacggatca taaagggatt tgtgactgga 50220  
gtttcaaact taatgtgtct aggcagtaat ttgacatta gatccaaaac aatttatagg 50280  
gtttcattaa attcatcta tgtgtactgt ttaggtgttg aatagtttga cttgtttttt 50340  
aactgaacaa aagatatgtc tgaagctttg ttctttacca aatgcagtac tgatcatcac 50400  
aatatatatt ttatggaaca agattggatt gtatagaatg gtttccgac tgattatctt 50460  
atctcaacgt attattatgc acatgtacta atcatgaaat atctgatgga atgatgtttc 50520  
tatttacctg tgtgaggcag caaggagtga gatggataac accacatact ccctctatcc 50580  
cagaatataa gaagttttag agttggacac gattattaag aaagtaggta gaagtgahta 50640  
gtggagggtt gtgattgcat gagtagtgga gtaggtggg aaaagtgaat ggtggagggt 50700  
tgtgattggt tgggaagaga atgttggtag agaagttgtt atattttggg gagtacatta 50760  
ttattctaga acaatactgt tgtgctcaag aagcgtcca aagatgtttc acaacctgtg 50820  
ctcgatgggt ttgagctta atcctgggac attcagtatc atgatctgtc tcattcttaa 50880  
acatggaata aaggatgaca gcatgatttc ttgtctcta taatcttttg gctaccaca 50940  
gataatagct gtaaattctat actactttaa aaggagtagt ggtggtggtg agtggtgaat 51000  
ctgccaccac cccaccacca actctcaaaa ttctgacatg tgggatcact gtcaatccct 51060  
tctccaagac atgtgggac actgtcaatc cttctccaa accaattgta tgatagaaca 51120  
gtggaaatca cggacagacc atggagctct caaccataat catccttgcg agttaataac 51180  
aaatggagcg taaacttggc aagcaaaaaa ctcaaattaa ttctaaaatt aagctctagg 51240  
attcaaaaata gatttcctct ctgcattgtg ctgttatgat ttttaattcc gtaacaacgc 51300  
aaatgcattt tgctagtctt ataaagaagg gttaatgcaa atattctgat taaatgattg 51360  
tatctatgaa gtttgaatgc tagtggaagc tcctttgacc atgttttgtt gtgcgagcat 51420  
ttaagagagt gaagagaatg cttcttttgt gctgttctgg tatggaagga tccacagata 51480  
aaattcaggt tctactgctt ctctgcttgt aattttcatg aagctgcagt gaataccttg 51540  
ttgaccactt gatctgttgc ttggaaggag aatatagtag tggccaaggt tggtagcggt 51600

gatggtggca tgtgatcccc cagatcttca gtgaccaga gaggagggga cggcgcgtgg 51660  
 tgagctacaa ggcataactca gtggagggca agatcaaggc ctcccgtccg taggggactc 51720  
 cgctgcatca aggccaactg ctccgaactg atcaatttct ggtacggatc acttctcctt 51780  
 tccttttttt tttcacctta agcactctct tgattcttcg ctgctacctc ccttaatttc 51840  
 tttcaatata ttgtggcact tgatcatggc ggagaccac cttccagtgt gaatggattt 51900  
 tgtcaaagaa ctaaatttat tccattagct tattttctga ttacatggaa gacattcttt 51960  
 tctggaataa atacagaact aaatcctgtt tcctgaataa aagttgttag tgtgtggcat 52020  
 ggtgcatttc cgcgcttcta aattttataa aacctgttca ttcaattga acctgcatcc 52080  
 aatccaatat tttagggtgca gacagggtgt tgcggtcagg ttaaagaagt tggcaaaaat 52140  
 gcttctgaag aaagggtta tgttgtttca tctcaggagg taatatgcag atgattattc 52200  
 caattggcat tgccttgcca tttttatcac gagtctttac aattttatat cctcctacat 52260  
 attctttcca gattccagat gatccagtgt ctccaacaat tgaggcgctt attttgctcc 52320  
 atagtaaagc aagtacactt gctgagaacc accagttgac aacacggctt gttgtacat 52380  
 caaacaaggt tggttgtatt cttggggaag gtggaaaggt aattactgaa atgagaagac 52440  
 ggactggggc tgaaatccga gtctactcaa aagcagataa acctaagtac ctgtcttttg 52500  
 atgaggagct tgtgcaggta atttatttgg ccatacctac accagagatc catatattac 52560  
 tttataact gcagttttta cttgttaaca tttcattgtg cttttacatt tgttccaagc 52620  
 tttcaggttg ctgggcttcc agctattgaa agaggagccc tgacagagat tgcttcgagg 52680  
 ctttgaacta ggacactcag agatggaagt tcttccaata atccgacacc ttttgcccct 52740  
 gttgatggtc ctctgttga tatcttgctt aacaaggaa tcatgctata tggacgatct 52800  
 gctaatagtc ccccatatgg agggcctgct aatgatccac catatggaag acctgccatt 52860  
 gatccaccat atggaagacc aatatccaca atatggaaga cctgccaatg atccaccata 52920  
 tagaagacct gtcaatgata catcatattg agggttggac aatgatgggc ctctgatca 52980  
 ggcccggctc tgaggggggt cgaatggggc gatcgctccg ggccccgat tcccagggcc 53040  
 cccacctatc tgtgcaacga gtagtagcga tcttccagcg cgcaacgtga ggcgatgttt 53100  
 ctccgtgatt tcgccggcct gcaactgcga gatcgcgagt ataacgatca gccgatcgat 53160  
 ctcatctgcc gactgccaatg ctgatgccac acgcaagcgc agcatatcag ccttatcttg 53220  
 gttgatcggc atgctggacg agcacatctg ttgtcgcac aactgctgac tgctatatat 53280  
 gtgctgggtgc tgaatcgatc gattgtcgtc gcggaagtga agaacaacca cggcactgct 53340

gcctgctggg ctctagccgc catcagtaag tacgctatac tgcctatcta gatctagatc 53400  
 gagattacat agtggaatta tctgtttata acaaaattac aaggtatcaa ttgataattt 53460  
 aaggttataa ccgtacaaac ttcagtgatt tgctggtttc acattgggta gatttgtttc 53520  
 aactaatttg gtacttctgt agccttgtaa tttacgaatc tagtattaat attttcttaa 53580  
 gtattagcct gttccitgat attatgctgt tgagaaagta tgcaatagat aacaaaaaca 53640  
 agtaggtgtg ttgaggatgc tcaagagtaa tacagccact tcaataattc tgatattatc 53700  
 aggacatcat caataattct gcgcctacaa atcttcaaag aaaattttaa tataatgcgt 53760  
 atgatttttt aaatacgaat attgattgct atttaaagat atttatatta tatggtaatt 53820  
 attatttgaa ggtttataat aaaggcctcc gtttttagtt tcacgctggg ccttcagaat 53880  
 ctcaggaccg gccctgctca tgate 53905

<210> 29

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 29

atcaggagcc ttcaaattgg gaac 24

<210> 30

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 30

ctcgcaaatt gcttaatttt gacc 24

<210> 31

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 31

tgaaggagtt atgggtgcgt gacg 24

<210> 32

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 32

ttgccgagca cacttgccat gtgc 24

<210> 33

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 33

gcgacgcaat ggacatagtg ctcc 24

<210> 34

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 34

ttacctgccca agcaatatcc atcg 24

<210> 35

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 35

aaggcatact cagtggaggg caag 24

<210> 36

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 36

ttaacctgac cgcaagcacc tgtc 24

<210> 37

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 37

tgatggact atgtggggtc agtc 24

<210> 38

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 38

agtgaagtg gagagagtag ggag 24

<210> 39

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 39

ccctccaaca cataaatggt tgag 24

<210> 40

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification



<400> 40

tttctgccag gaaactgtta gatg 24

<210> 41

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 41

gcgatcttat acgcatacta tgcg 24

<210> 42

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 42

aaagtctttg ttccttcacc aagg 24

<210> 43

<211> 26

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 43

gaggatttat caaaacagga tggacg 26

<210> 44  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 44  
tgggcggcag cagtggagga taga 24

<210> 45  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 45  
aagaaggag gggtatagaa tctg 24

<210> 46  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 46  
atatcaggac taacaccact gctc 24

<210> 47

<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 47  
acgagtagta gcgatcttcc agcg 24

<210> 48  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 48  
cagcgtgaaa ctaaaaacgg aggc 24

<210> 49  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 49  
atcccacatc atcataatcc gacc 24

<210> 50  
<211> 25  
<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 50

agcttctccc ttggatacgg tggcg 25

<210> 51

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 51

atttgttggt tagttgcggc tgag 24

<210> 52

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 52

gcccaaactc aaaaggagag aacc 24

<210> 53

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 53

cctcaagtct cccctaaagc cact 24

<210> 54

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 54

gctctactgc tgataaacgc tgag 24

<210> 55

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 55

tggatggact atgtggggtc agtc 24

<210> 56

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 56

agtggaagtg gagagagtag ggag 24

<210> 57

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 57

tacgacgcca ttctactcca ttgc 24

<210> 58

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 58

catttctcta tgggcgttgc tctg 24

<210> 59

<211> 26

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 59

acctgtaggt atggcacctt caacac 26

<210> 60

<211> 26

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 60

ccaaggaacg aagttcaaat gtatgg 26

<210> 61

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 61

tgatgtgttt gggcatccct ttcg 24

<210> 62

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 62

gagatagggg acgacagaca cgac 24

<210> 63

<211> 26

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 63

tcctatggct gtttagaaac tgcaca 26

<210> 64

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 64

caagttcaaa cataactggc gttg 24

<210> 65

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 65

cactgtcctg taagtgtgct gtgc 24

<210> 66

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence



<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 66

caagcgtgtg ataaaatgtg acgc 24

<210> 67

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 67

tgcctactgc cattactatg tgac 24

<210> 68

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 68

acatactacc gtaaattggc tctg 24

<210> 69

<211> 4820

<212> DNA

<213> rice

<400> 69

atcgatcgcg atctccctgc cccgacgtcg cgggccgac tctcattctc tccacgccct 60  
gctcgtcgcc gatctcctac accatccctg ccattctctc ctccccctcc cctctatcct 120  
ccactgggtgc cgcccacctc tccgtataag acaaactgcg ttgcggcggtt ggtttccgcc 180  
ggcgctgctg ctgcacctgt cagctagggc gggcatggcg cgccgcgccc cttcccgcgc 240  
tgttggcgcc cttecgctcg acggctcgat ccaagggcga ggaggccgcg cggggggcag 300  
tggcgccgag gacgcacgcc acgtgttcga cgaattgctc cgccgtggca ggggcgcctc 360  
gatctacggc ttgaaccgcg ccttcgccga cgtcgcgcgt gacagccccg cggccgccgt 420  
gtcccgctac aaccgcatgg cccgagccgg cgccgacgag gtaactcccg acttgtgcac 480  
ctacggcatt ctcatcggtt gctgctgccg cgcgggccgc ttggacctcg gtttcgcggc 540  
cttgggcaat gtcattaaga agggatttag agtggacgcc atgccttca ctctctgct 600  
caagggcctc tgtgccgaca agaggacgag cgacgcaatg gacatagtgc tccgcagaat 660  
gaccgagctc ggctgcatac caaatgtctt ctctacaat attcttctca aggggctgtg 720  
tgatgagaac agaagccaag aagctctcga gctgctgcac atgatggctg atgatcgagg 780  
aggaggtagc ccacctgatg tgggtgctga taccactgtc atcaatggct tcttcaaaga 840  
gggggattca gacaaagctt acagtacata ccatgaaatg ctggaccggg ggattttacc 900  
tgatgttgtg acctacaact ctattattgc tgcgttatgc aaggctcaag ctatggacaa 960  
agccatggag gtacttaaca ccatgggtta gaatgggtgc atgcctgatt gcatgacata 1020  
taatagtatt ctgcatggat attgctcttc agggcagccg aaagaggcta ttggatttct 1080  
caaaaagatg cgcagtgatg gtgtcgaacc agatgttgtt acttatagct tgctcatgga 1140  
ttatctttgc aagaacggaa gatgcatgga agctagaaag attttcgatt ctatgaccaa 1200  
gaggggccta aagcctgaaa ttactaccta tggtagcctg cttcaggggt atgctaccaa 1260  
aggagccctt gttgagatgc atggctctct ggatttgatg gtacgaaacg gtatccaccc 1320  
tgatcattat gttttcagca ttctaataatg tgcatacgct aaacaaggga aagtagatca 1380  
ggcaatgctt gtgttcagca aaatgaggca gcaaggattg aatccgaatg cagtgcgta 1440  
tggagcagtt ataggcatac tttgcaagtc aggcagagta gaagatgcta tgctttatct 1500  
tgagcagatg atcgatgaag gactaagccc tggcaacatt gtttataact ccctaattca 1560  
tggtttgtgc acctgtaaca aatgggagag ggctgaagag ttaattcttg aaatgttgga 1620  
tcgaggcatc tgtctgaaca ctattttctt taattcaata attgacagtc attgcaaaga 1680  
agggagggtt atagaatctg aaaaactctt tgagctgatg gtacgtattg gtgtgaagcc 1740

caatgtcatt acctacaata ctcttatcaa tggatattgc ttggcaggta agatggatga 1800  
 agcaatgaag ttactttctg gcatggcttc agttgggttg aaacctataa ctgttactta 1860  
 tagcactttg attaatggct actgcaaaat tagtaggatg gaagacgcgt tagttctttt 1920  
 taaggagatg gagagcagtg gtgttagtcc tgatattatt acgtataaca taattctgca 1980  
 aggtttatit caaaccagaa gaactgctgc tgcaaaagaa ctctatgtta ggattaccga 2040  
 aagtggaacg cagattgaac ttagcacata caacataatc cttcatggac ttgcaaaaaa 2100  
 caaactcact gatgatgcac ttcagatgtt tcagaacctt tgtttgatgg atttgaagct 2160  
 tgaggctagg actttcaaca ttatgattga tgcattgctt aaagttggca gaaatgatga 2220  
 agccaaggat ttgtttgttg ctttctcgtc taacgggtta gtgccgaatt attggacgta 2280  
 caggttgatg gctgaaaata ttataggaca ggggttgcta gaagaattgg atcaactctt 2340  
 tctttcaatg gaggacaatg gctgtactgt tgactctggc atgctaaatt tcattgttag 2400  
 ggaactgttg cagagagggt agataaccag ggctggcact tacctttcca tgattgatga 2460  
 gaagcacttt tccctcgaag catccactgc ttccttgitt atagatcttt tgtctggggg 2520  
 aaaatatcaa gaatattata ggtttctccc tgaaaaatac aagtccttta tagaatcttt 2580  
 gagctgctga agcattttgc agctttgaaa ttctgtgttg gaattctttt ctctacagt 2640  
 cctattagag gagggatctt ctctgtatgt gtaaatacg agtttgaatg ctagtggaag 2700  
 ctctttgac catgttttgt tgtgcgagca tttaagagag tgaagagaat gcttcttttg 2760  
 tgctgttctg gtatggaagg atccacagat aaaattcagt agtggccaag gttggtgacg 2820  
 gtgatggttg catgtgatcc cccagatctt cagtgaacca gagaggaggg gacggcgcgt 2880  
 ggtgagctac aaggcatact cagtggaggg caagatcaag gcctcccgtc cgtagggggac 2940  
 tccgctgcat caaggccaac tgctccgaac tgatcaattt ctggtgcaga caggtgcttg 3000  
 cggtcagggt aaagaagttg gcaaaaatgc ttctgaagaa aggttaattg ttgtttcatc 3060  
 tcaggagatt ccagatgatc cagtgtctcc aacaattgag gcgcttattt tgctccatag 3120  
 taaagtaagt acacttgctg agaaccacca gttgacaaca cggcttggtg taccatcaaa 3180  
 caaagttggt tgtattcttg gggaagggtg aaaggtaatt actgaaatga gaagacggac 3240  
 tggggctgaa atccgagtct actcaaaagc agataaacct aagtacctgt cttttgatga 3300  
 ggagcttggt caggttgctg ggcttccagc tattgaaaga ggagccctga cagagattgc 3360  
 ttcgaggctt tgaactagga cactcagaga tggaagttct tccaataatc cgacaccttt 3420  
 tgccccgtgt gatggctctc ctgttgatat cttgcctaac aaggaattca tgctatatgg 3480

acgatctgct aatagtcgcc catatggagg gcctgcta atgccaccat atggaagacc 3540  
 tgccattgat ccacatatg gaagaccaat atccacaata tggaagacct gccaatgac 3600  
 caccatatag aagacctgtc aatgatacat catattgagg gttgaacaat gatgggcctc 3660  
 gtgatcaggc ccggtcctga ggggggtcga atggggcgat cgctccgggc ccccgattc 3720  
 ccaggggccc cacctatctg tgcaacgagt agtagcgatc ttccagcgcg caacgtgagg 3780  
 cgatgtttct ccgtgatttc gccggcctgc aactgcgaga tcgagagtat aacgatcagc 3840  
 cgatcgatct catctgccga ctgccatgct gatgccacac gcaagcgag catatcagcc 3900  
 ttatcttggg tgatcgcat gctggacgag cacatctgtt gtcgcatcaa ctgctgactg 3960  
 ctatatatgt gctgggtgctg aatcgatcga ttgtcgtcac ggaagtgaag aacaaccacg 4020  
 gcactgctgc ctgctgggct ctagccgcca tcagctgcgg agctgatcca tggacgtgag 4080  
 gattaccgaa gactgtcagg tcctactggg tatccagggt gctctgtcga attgtggatt 4140  
 ccaaatagtt aactggagtc tgcatttggg gttggtgggt tcaatctagc tgagatccgt 4200  
 ctggtatagc gtaagagaaa catcatgcac tatcccagc cataaccatg cccaatggc 4260  
 caccaatagt tttcctcgtg aaaatctccc ctgatccca gatctctggt gcgagagtga 4320  
 agttgcacga agcccatcct ggttcttccg agtccattgt ggagatccag ggcatcctcg 4380  
 atcaagtga agccgcacag agccttctgc aaggcttcat cggcgcaagc agcaacagca 4440  
 ggcaggcgcc ccagtcctct cgcattggcc attattttta gtaagctgga ggacattcgc 4500  
 aacagggggg tcagtgggtc ctgcaaagct gagtttggtc ttcagttcaa ctgcagaaaa 4560  
 ttgcagatcg gttgccgtag ttgctagaac ggtacatagt tgccacctaa ctgtagcgag 4620  
 tggcataact tattgtgtgt tactgcccga tgtgtctct ccttgtgttc atggattcag 4680  
 acttgtgatt gtagtatttc tggatcagac tggagtaaaa gaaaaaaaaa aaggaagaca 4740  
 tgggtttaac agtaagctca aaacgttgac agtagtaaaa taaaaggggt ttgttcactt 4800  
 taaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4820

- <210> 70
- <211> 4821
- <212> DNA
- <213> rice
- <400> 70

cgatcgcgat ctccctgccc cgacgtcgcc ggccgatctc tcattctctc caccgacctgc 60  
 tcgtcgccga tctcctacac catccctgcc atctcctcct tcccctcccc tctatcctcc 120  
 actggtgccg cccacctctc cgtataagac aaactgcgtt gcggcggttg tttccgccgg 180  
 cgctgctgct gcacctgtca gctagggcgg gcatggcgcg ccgcgccgct tcccgcgctg 240  
 ttggcgccct tcgctcggac ggctcgatcc aagggcgagg aggccgcgcg gggggcagtg 300  
 gcgccgagga cgcacgccac gtgttcgacg aattgctccg ccgtggcagg ggcgccctcga 360  
 tctacggctt gaaccgcgcc ctgcgccgac tcgcgcgtga cagccccgcg gccgccgtgt 420  
 cccgctacaa ccgcatggcc cgagccggcg ccgacgaggt aactcccgac ttgtgcacct 480  
 acggcattct catcggttgc tgctgccgcg cgggccgctt ggacctcgtt ttcgcggcct 540  
 tgggcaatgt cattaagaag ggatttagag tggacgccat cgccttcact cctctgctca 600  
 agggcctctg tgccgacaag aggacgagcg acgcaatgga catagtgtct cgcagaatga 660  
 ccgagctcgg ctgcatacca aatgtcttct cctacaatat tcttctcaag gggctgtgtg 720  
 atgagaacag aagccaagaa gctctcgagc tgctgcacat gatggctgat gatcgaggag 780  
 gaggtagccc acctgatgtg gtgtcgtata ccaactgtcat caatggcttc ttcaaagagg 840  
 gggattcaga caaagcttac agtacatacc atgaaatgct ggaccggggg attttacctg 900  
 atgttgtgac ctacaactct attattgctg cgttatgcaa ggctcaagct atggacaaag 960  
 ccatggaggt acttaacacc atggttaaga atgggtgcat gcctgattgc atgacatata 1020  
 atagtattct gcatggatat tgctcttcag ggcagccgaa agaggctatt ggatttctca 1080  
 aaaagatgcg cagtgatggt gtcgaaccag atgttggttac ttatagcttg ctcatggatt 1140  
 atctttgcaa gaacggaaga tgcattggaag ctagaaagat tttcgattct atgaccaaga 1200  
 ggggcctaaa gcctgaaatt actacctatg gtaccctgct tcaggggtat gctaccaaag 1260  
 gagcccttgt tgagatgcat ggtctcttgg atttgatggt acgaaacggt atccaccctg 1320  
 atcattatgt tttcagcatt ctaatatgtg catacgttaa acaagggaaa gtagatcagg 1380  
 caatgcttgt gttcagcaaa atgaggcagc aaggattgaa tccgaatgca gtgacgtatg 1440  
 gagcagttat aggcatactt tgcaagtcag gcagagtaga agatgctatg ctttattttg 1500  
 agcagatgat cgatgaagga ctaagccctg gcaacattgt ttataactcc ctaattcatg 1560  
 gtttgtgcac ctgtaacaaa tgggagaggg ctgaagagtt aattcttgaa atgttgatc 1620  
 gaggcattct tctgaacact attttcttta attcaataat tgacagtcac tgcaaagaag 1680  
 ggagggttat agaattctgaa aaactctttg agctgatggt acgtattggt gtgaagccca 1740

atgtcattac ctacaatact cttatcaatg gatattgctt ggcaggtaag atggatgaag 1800  
caatgaagtt actttctggc atgggtctcag ttgggttgaa acctaatact gttacttata 1860  
gcactttgat taatggctac tgcaaaatta gtaggatgga agacgcgtta gttcttttta 1920  
aggagatgga gagcagtggg gttagtcctg atattattac gtataacata attctgcaag 1980  
gtttatttca aaccagaaga actgctgctg caaaagaact ctatgttagg attaccgaaa 2040  
gtggaacgca gattgaactt agcacataca acataatcct tcatggactt tgcaaaaaca 2100  
aactcactga tgatgcactt cagatgtttc agaacctatg tttgatggat ttgaagcttg 2160  
aggctaggac tttcaacatt atgattgatg cattgcttaa agttggcaga aatgatgaag 2220  
ccaaggattt gtttgttgct ttctcgtcta acggttagt gccgaattat tggacgtaca 2280  
ggttgatggc tgaaaatatt ataggacagg ggttgctaga agaattggat caactcttct 2340  
tttcaatgga ggacaatggc tgtactgttg actctggcat gctaaatttc attgttaggg 2400  
aactgttgca gagaggtgag ataaccaggg ctggcactta cctttccatg attgatgaga 2460  
agcacttttc cctcgaagca tccactgctt ccttgtttat agatcttttg tctgggggaa 2520  
aatatcaaga atattatagg tttctccctg aaaaatacaa gtcctttata gaatctttga 2580  
gctgctgaag cattttgcag ctttgaaatt ctgtgttgga attcttttct cctacagtcc 2640  
tattagagga gggatcttct ctgtatgtgt aaatagcgag tttgaatgct agtggaaagct 2700  
cctttgacca tgttttgttg tgcgagcatt taagagagt aagagaatgc ttctttggtg 2760  
ctgttctggt atggaaggat ccacagataa aattcagtag tggccaaggt tggtgacggt 2820  
gatggtggca tgtgatcccc cagatcttca gtgaccaga gaggagggga cggcgcgtgg 2880  
tgagctacaa ggcatactca gtggagggca agatcaaggc ctcccgtccg taggggactc 2940  
cgctgcatca aggccaactg ctccgaactg atcaatttct ggtgcagaca ggtgcttgcg 3000  
gtcagggttaa agaagtggc aaaaatgctt ctgaagaaag gttaattgtt gtttcatctc 3060  
aggagattcc agatgatcca gtgtctccaa caattgaggc gcttattttg ctccatagta 3120  
aagtaagtac acttgctgag aaccaccagt tgacaacacg gcttggttgta ccatcaaaca 3180  
aagttggttg tattcttggg gaaggtggaa aggtaattac tgaaatgaga agacggactg 3240  
gggctgaaat ccgagtctac tcaaaagcag ataaacctaa gtacctgtct tttgatgagg 3300  
agcttgctga ggttgctggg cttccagcta ttgaaagagg agccctgaca gagattgctt 3360  
cgaggctttg aactaggaca ctgagagatg gaagttcttc caataatccg acacctttg 3420  
cccctgttga tggtcctcct gttgatatct tgcctaacaa ggaattcatg ctatatggac 3480

gatctgctaa tagtccccca tatggagggc ctgctaata tccaccatat ggaagacctg 3540  
ccattgatcc accatatgga agaccaatat ccacaatatg gaagacctgc caatgatcca 3600  
ccatatagaa gacctgtcaa tgatacatca tattgagggt tgaacaatga tgggcctcgt 3660  
gatcaggccc ggtcctgagg ggggtcgaat ggggcgatcg ctccgggccc cccgattccc 3720  
agggccccca cctatctgtg caacgagtag tagcgatctt ccagcgcgca acgtgaggcg 3780  
atgtttctcc gtgatttcgc cggcctgcaa ctgcgagatc gcgagtataa cgatcagccg 3840  
atcgatctca tctgccgact gccatgctga tgccacacgc aagcgcagca tatcagcctt 3900  
atcttggttg atcggcatgc tggacgagca catctgttgt cgcatcaact gctgactgct 3960  
atatatgtgc tgggtctgaa tcgatcgatt gtcgtcacgg aagtgaagaa caaccacggc 4020  
actgctgcct gctgggctct agccgccatc agctgcggag ctgatccatg gacgtgagga 4080  
ttaccgaaga ctgtcaggtc tcaactgggtg tccagggtggc tctgtcgaat tgtggattcc 4140  
aaatagttaa ctggagtctg tcattgggtg tgggtggtgc aatctagctg agatccgtct 4200  
ggtatagcgt aagagaaaca tcatgacta tccccagtca taaccatgcc ccaatggcca 4260  
ccaatagttt tcctcgtgaa aatctcccct tgatcccaga tctctgggtc gagagtgaag 4320  
ttgcacgaag cccatcctgg ttcttccgag tccattgtgg agatccaggg cattccggat 4380  
caagtgaag ccgcacagag ctttctgcaa ggcttcatcg gcgcaagcag caacagcagg 4440  
caggcgcccc agtcctctcg catggcccat tatttttagt aagctggagg acattcgcaa 4500  
caggggggtc agtggtcact gcaaagctga gtttgttctt cagttcaact gcagaaaatt 4560  
gcagatcggt tgccgtagtt gctagaacgg tacatagttg ccacctaact gtagcgagtg 4620  
gcataactta ttgtgtgta ctgccaatg ttgtctctcc ttgtgttcat ggattcagac 4680  
ttgtgattgt agtatttctg gatcagactg gagtaaaaga aaaaaaaaaa ggaagacatg 4740  
ggtttaacag taagctcaaa acgttgacag tagtaaaata aaaggggttt gttcacttta 4800  
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa a 4821

<210> 71

<211> 5005

<212> DNA

<213> rice

<400> 71

gagatcgatc gcgatctccc tgccccgacg tcgccggccg atctctcatt ctctccacgc 60  
 cctgctcgtc gccgatctcc tacaccatcc ctgccatctc ctccctcccc tcccctctat 120  
 cctccactgg tgccgcccac ctctccgtat aagacaaact gcgttgccggc gttggtttcc 180  
 gccggcgctg ctgctgcacc tgtcagctag ggccggcatg gcgcgccgcg ccgcttcccc 240  
 cgctgttggc gcccttcgct cggacggctc gatccaaggg cgaggaggcc gcgcgggggg 300  
 cagtggcgcc gaggacgcac gccacgtgtt cgacgaattg ctccgccgtg gcaggggcgc 360  
 ctcgatctac ggcttgaacc gcgccctcgc cgacgtcgcg cgtgacagcc ccgcggccgc 420  
 cgtgtccccg tacaaccgca tggccccgagc cggcgccgac gaggttaactc ccgacttgtg 480  
 cacctacggc attctcatcg gttgctgctg ccgcgcgggc cgcttggacc tcggtttcgc 540  
 ggcccttggc aatgtcatta agaagggatt tagagtggac gccatgcct tcactcctct 600  
 gctcaagggc ctctgtgccg acaagaggac gagcgacgca atggacatag tgctccgcag 660  
 aatgaccgag ctccggtgca taccaaattg cttctctac aatattcttc tcaaggggct 720  
 gtgtgatgag aacagaagcc aagaagctct cgagctgctg cacatgatgg ctgatgatcg 780  
 aggaggaggt agcccacctg atgtgggtgc gtataccact gtcacatg gcttcttcaa 840  
 agagggggat tcagacaaag cttacagtac ataccatgaa atgctggacc gggggatttt 900  
 acctgatgtt gtgacctaca actctattat tgctgcgtta tgcaaggctc aagctatgga 960  
 caaagccatg gaggtactta acaccatggg taagaatggg gtcatgcctg attgcatgac 1020  
 atataatagt attctgcatg gatattgctc ttcagggcag ccgaaagagg ctattggatt 1080  
 tctcaaaaag atgcgcagtg atgggtgtcg accagatgtt gttacttata gcttgctcat 1140  
 ggattatctt tgcaagaacg gaagatgcat ggaagctaga aagattttcg attctatgac 1200  
 caagaggggc ctaaagcctg aaattactac ctatgggtacc ctgcttcagg ggtatgctac 1260  
 caaaggagcc cttgttgaga tgcatggctt cttggatttg atggtagaa acggtatcca 1320  
 ccctgatcat tatgttttca gcattctaata atgtgcatac gctaaacaag ggaaagtaga 1380  
 tcaggcaatg cttgtgttca gcaaaatgag gcagcaagga ttgaatccga atgcagtac 1440  
 gtatggagca gttataggca tactttgcaa gtcaggcaga gtagaagatg ctatgcttta 1500  
 ttttgagcag atgatcgatg aaggactaag ccctggcaac attgtttata actccctaata 1560  
 tcatggtttg tgcacctgta acaaatggga gagggctgaa gagttaattc ttgaaatgtt 1620  
 ggatcgaggc atctgtctga acactatatt ctttaattca ataattgaca gtcattgcaa 1680  
 agaagggagg gttatagaat ctgaaaaact ctttgagctg atggtagta ttggtgtgaa 1740



gcccaatgtc attacctaca atactcttat caatggatat tgcttggcag gtaagatgga 1800  
 tgaagcaatg aagttacttt ctggcatggt ctgagttggg ttgaaaccta atactgttac 1860  
 ttatagcact ttgattaatg gctactgcaa aattagtagg atggaagacg cgttagttct 1920  
 ttttaaggag atggagagca gtggtgtag tctgatatt attacgtata acataattct 1980  
 gcaaggttta tttcaaacca gaagaactgc tgctgcaaaa gaactctatg ttaggattac 2040  
 cgaaagtgga acgcagattg aacttagcac atacaacata atccttcacg gactttgcaa 2100  
 aaacaaactc actgatgatg cacttcagat gtttcagaac ctatgtttga tggatttgaa 2160  
 gcttgaggct aggactttca acattatgat tgatgcattg cttaaagttg gcagaaatga 2220  
 tgaagccaag gatttgtttg ttgctttctc gtctaacggt ttagtgccga attattggac 2280  
 gtacaggttg atggctgaaa atattatagg acaggggttg ctagaagaat tggatcaact 2340  
 ctttctttca atggaggaca atggctgtac tgttgactct ggcatgctaa atttcattgt 2400  
 tagggaactg ttgcagagag gtgagataac cagggctggc acttaccttt ccatgattga 2460  
 tgagaagcac ttttccctcg aagcatccac tgcttccttg tttatagatc ttttgtctgg 2520  
 gggaaaatat caagaatatt ataggtttct ccttgaaaaa tacaagtcct ttatagaatc 2580  
 tttgagctgc tgaagcattt tgcagcttg aaattctgtg ttggaattct tttctcctac 2640  
 agtcctatta gaggagggat cttctctgta tgtgtaaata gcgagttga atgctagtgg 2700  
 aagctccttt gaccatgttt tgttgtgca gcatttaaga gagtgaagag aatgcttctt 2760  
 tgggtgctgtt ctggtatgga aggatccaca gataaaattc aggagaatat agtagtggcc 2820  
 aaggttggtg acggtgatgg tggcatgtga tccccagat cttcagtgac ccagagagga 2880  
 ggggacggcg cgtggtgagc tacaaggcat actcagtga gggcaagatc aaggcctccc 2940  
 gtccgtaggg gactccgctg catcaaggcc aactgctccg aactgatcaa tttctggtgc 3000  
 agacaggtgc ttgcggtcag gttaaagaag ttggcaaaaa tgcttctgaa gaaaggttaa 3060  
 ttgttgtttc atctcaggag attccagatg atccagtgtc tccaacaatt gaggcgctta 3120  
 ttttgctcca tagtaaagta agtacacttg ctgagaacca ccagttgaca acacggcttg 3180  
 ttgtaccatc aaacaaagtt ggttgatttc ttggggaagg tggaaaggta attactgaaa 3240  
 tgagaagacg gactggggct gaaatccgag tctactcaaa agcagataaa cctaagtacc 3300  
 tgtcttttga tgaggagctt gtgcaggttg ctgggcttcc agctattgaa agaggagccc 3360  
 tgacagagat tgcttcgagg ctttgaacta ggacactcag agatggaagt tcttccaata 3420  
 atccgacacc ttttgcctt gttgatggtc ctctgttga tatcttgctt aacaaggaat 3480

tcatgctata tggacgatct gctaatagtc ccccatatgg agggcctgct aatgatccac 3540  
 catatggaag acctgccatt gatccacat atggaagacc aatatccaca atatggaaga 3600  
 cctgccaatg atccaccata tagaagacct gtcaatgata catcatattg agggttgaac 3660  
 aatgatgggc ctcgtgatca ggcccgtcc tgaggggggt cgaatggggc gatcgctccg 3720  
 ggccccccga ttcccagggc cccacctat ctgtgcaacg agtagtagcg atcttccagc 3780  
 gcgcaacgtg aggcgatgtt tctccgtgat ttccgccc tgcaactgcg agatcgcgag 3840  
 tataacgatc agccgatcga tctcatctgc cgactgccat gctgatgcca cacgcaagcg 3900  
 cagcatatca gccttatctt ggttgatcgg catgctggac gagcacatct gttgtcgcat 3960  
 caactgctga ctgctatata tgtctgggtg ctgaatcgat cgattgtcgt cacggaagtg 4020  
 aagaacaacc acggcactgc tgcctgctgg gctctagccg ccatcagctg cggagctgat 4080  
 ccatggacgt gaggattacc gaagactgtc aggtctcact gggtatccag gtggctctgt 4140  
 cgaattgtgg attccaaata gttaactgga gtctgtcatt ggtgttggtg gtgtcaatct 4200  
 agctgagatc cgtctggtat agcgtaagag aaacatcatg cactatcccc agtcataacc 4260  
 atgccccaat ggccaccaat agttttcctc gtgaaaatct ccccttgatc ccagatctct 4320  
 ggtgcgagag tgaagttgca cgaagcccat cctggttctt ccgagtccat tgtggagatc 4380  
 cagggcattc cggatcaagt gaaagccgca cagagccttc tgcaaggctt catcggcgca 4440  
 agcagcaaca gcaggcaggc gccccagtcc tctcgcatgg cccattatit ttagtaagct 4500  
 ggaggacatt cgcaacaggg gggtcagtgg tcaactgcaa gctgagtttg ttcttcagtt 4560  
 caactgcaga aaattgcaga tcggttgccg tagttgctag aacggtacat agttgccacc 4620  
 taactgtagc gagtggcata acttattgtg tgttactgcc caatgttgtc tctccttggt 4680  
 ttcatggatt cagacttggt attgtagtat ttctggatca gactggagta aaagaaaaaa 4740  
 aaaaaggaag acatggggtt aacagtaagc tcaaaacgtt gacagtagta aaataaaagg 4800  
 ggtttgttca ctttatitcc aatatcaacc ttaccaacat ttggcgttga atcatttata 4860  
 ccacatcgct tgtgcagctg aatttggggc tgtttaaaag atggtctctt ggattgctaa 4920  
 ttgcctcgcg gcaagcgtgg tacctgttac aatataaata taattataac tatttaattt 4980  
 cataaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 5005

&lt;210&gt; 72

&lt;211&gt; 4978

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; rice

&lt;400&gt; 72

gcgatctccc tgccccgacg tcgccggccg atctctcatt ctctccacgc cctgctcgtc 60  
gccgatctcc tacaccatcc ctgccatctc ctcttcccc tcccctctat cctccactgg 120  
tgccgcccac ctctccgtat aagacaaact gcgttgccgc gttggtttcc gccggcgctg 180  
ctgctgcacc tgtcagctag ggccggcatg gcgcgccgcg ccgcttcccg cgctgttggc 240  
gcccttcgct cggacggctc gatccaaggc cgaggaggcc gcgcgggggg cagtggcgcc 300  
gaggacgcac gccacgtgtt cgacgaattg ctccgccgtg gcaggggcgc ctcgatctac 360  
ggcttgaacc gcgccctcgc cgacgtcgcg cgtgacagcc ccgcggccgc cgtgtcccgc 420  
tacaaccgca tggcccgagc cggcgccgac gaggtaactc ccgacttgtg cacctacggc 480  
attctcatcg gttgctgctg ccgcgcgggc cgcttggacc tcggtttcgc ggccttgggc 540  
aatgtcatta agaagggtt tagagtggac gccatgcctt tcaactcctt gctcaagggc 600  
ctctgtgccg acaagaggac gagcgacgca atggacatag tgctccgcag aatgaccgag 660  
ctcggtgca taccaaagt cttctctac aatattcttc tcaaggggct gtgtgatgag 720  
aacagaagcc aagaagctct cgagctgctg cacatgatgg ctgatgatc aggaggaggt 780  
agcccacctg atgtggtgtc gtataccact gtcacatg gcttcttcaa agagggggat 840  
tcagacaaag cttacagtac ataccatgaa atgctggacc gggggatatt acctgatgtt 900  
gtgacctaca actctattat tgctgcgtta tgcaaggctc aagctatgga caaagccatg 960  
gaggtactta acaccatggt taagaatggt gtcatgcctg attgcatgac atataatagt 1020  
attctgcatg gatattgctc ttcagggcag ccgaaagagg ctattggatt tctcaaaaag 1080  
atgcgcagtg atggtgtcga accagatgtt gttacttata gcttgctcat ggattatctt 1140  
tgcaagaacg gaagatgcat ggaagctaga aagattttcg attctatgac caagaggggc 1200  
ctaaagcctg aaattactac ctatggtacc ctgcttcagg ggtatgctac caaaggagcc 1260  
cttgttgaga tgcattgtct cttggatttg atggtacgaa acggtatcca ccctgatcat 1320  
tatgttttca gcattctaata atgtgcatac gctaaacaag ggaaagtaga tcaggcaatg 1380  
cttggtttca gcaaaatgag gcagcaagga ttgaatccga atgcagtac gtatggagca 1440  
gttataggca tactttgcaa gtcaggcaga gtagaagatg ctatgcttta ttttgagcag 1500  
atgatcgatg aaggactaag ccctggcaac attgtttata actccctaata tcatggtttg 1560

tgcacctgta acaaattgga gagggctgaa gagttaattc ttgaaatgtt ggatcgaggc 1620  
atctgtctga acactatittt ctttaattca ataattgaca gtcattgcaa agaagggagg 1680  
gttatagaat ctgaaaaact ctttgagctg atgggtacgta ttggtgtgaa gcccaatgtc 1740  
attacctaca atactcttat caatggatat tgcttggcag gtaagatgga tgaagcaatg 1800  
aagttacttt ctggcatggg ctcagttggg ttgaaaccta atactgttac ttatagcact 1860  
ttgattaatg gctactgcaa aattagtagg atggaagacg cgtagttctt ttttaaggag 1920  
atggagagca gtggigttag tcctgatatt attacgtata acataattct gcaaggttta 1980  
tttcaaacca gaagaactgc tgctgcaaaa gaactctatg ttaggattac cgaaagtgga 2040  
acgcagattg aacttagcac atacaacata atccttcatg gactttgcaa aaacaaactc 2100  
actgatgatg cacttcagat gtttcagaac ctatgtttga tggatttgaa gcttgaggct 2160  
aggactttca acattatgat tgatgcattg cttaaagttg gcagaaatga tgaagccaag 2220  
gatttgtttg ttgctttctc gtctaacggg ttagtgccga attattggac gtacaggttg 2280  
atggctgaaa atattatagg acaggggttg ctagaagaat tggatcaact ctttctttca 2340  
atggaggaca atggctgtac tgttgactct ggcattgctaa atttcattgt tagggaactg 2400  
ttgcagagag gtgagataac cagggctggc acttaccttt ccatgattga tgagaagcac 2460  
ttttccctcg aagcatccac tgcttccttg tttatagatc ttttgtctgg gggaaaatat 2520  
caagaatatt ataggtttct ccctgaaaaa tacaagtcct ttatagaatc tttgagctgc 2580  
tgaagcattt tgcagctttg aaattctgtg ttggaattct tttctcctac agtcctatta 2640  
gaggagggat cttctctgta tgtgtaaata gcgagtttga atgctagtgg aagctccttt 2700  
gaccatgttt tgttgtgcga gcatttaaga gagtgaagag aatgcttctt tgggtgtgtt 2760  
ctggtatgga aggatccaca gataaaattc aggttctact gcttctctgc ttgtaatttt 2820  
catgaagctg cagtgaatac cttgttgacc acttgatctg ttgctttgaa ggagaatata 2880  
gtagtggcca aggttggtga cggtgatggg ggcattgtat ccccgagatc ttcagtgacc 2940  
cagagaggag gggacggcgc gtggtgagct acaaggcata ctcagtggag ggcaagatca 3000  
aggcctcccg tccgtagggg actccgctgc atcaaggcca actgctccga actgatcaat 3060  
ttctgggtgca gacaggtgct tgcggtcagg ttaaagaagt tggcaaaaat gcttctgaag 3120  
aaaggttaat tgttgtttca tctcaggaga ttccagatga tccagtgtct ccaacaattg 3180  
aggcgcttat tttgtccat agtaaagtaa gtacacttgc tgagaaccac cagttgacaa 3240  
cacggcttgt tgtaccatca aacaaagttg gttgtattct tggggaaggt ggaaaggtaa 3300

ttactgaaat gagaagacgg actggggctg aaatccgagt ctactcaaaa gcagataaac 3360  
 ctaagtacct gtcttttgat gaggagcttg tgcaggttgc tgggcttcca gctattgaaa 3420  
 gaggagccct gacagagatt gcttcgaggc tttgaactag gacactcaga gatggaagtt 3480  
 cttccaataa tccgacacct tttgcccctg ttgatggtcc tcctgttgat atcttgccta 3540  
 acaaggaatt catgctatat ggacgatctg ctaatagtcc cccatatgga gggcctgcta 3600  
 atgatccacc atatggaaga cctgccattg atccaccata tggaagacca atatccacaa 3660  
 tatggaagac ctgccaatga tccaccatat agaagacctg tcaatgatac atcatattga 3720  
 gggttgaaca atgatgggcc tcgtgatcag gcccggtcct gaggggggtc gaatggggcg 3780  
 atcgctccgg gcccccgat tcccagggcc cccacctatc tgtgcaacga gtagtagcga 3840  
 tcttccagcg cgcaacgtga ggcgatgtt ctccgtgatt tcgccggcct gcaactgcga 3900  
 gatcgcgagt ataacgatca gccgatcgat ctcatctgcc gactgccatg ctgatgccac 3960  
 acgcaagcgc agcatatcag ccttatcttg gttgatcggc atgctggacg agcacatctg 4020  
 ttgtcgcac aactgctgac tgctatatat gtgctggtgc tgaatcgatc gattgtcgtc 4080  
 acggaagtga agaacaacca cggcactgct gcctgctggg ctctagccgc catcagtaag 4140  
 ctgcggagct gatccatgga cgtgaggatt accgaagact gtcaggcttc actgggtatc 4200  
 cagggtggctc tgtcgaattg tggattccaa atagttaact ggagtctgtc attggtgttg 4260  
 gtggtgtcaa tctagctgag atccgtctgg tatagcgtaa gagaaacatc atgcactatc 4320  
 cccagtcata accatgcccc aatggccacc aatagttttc ctcgtgaaaa tctccccttg 4380  
 atcccagatc tctggtgcga gagtgaagtt gcacgaagcc catcctggtt cttccgagtc 4440  
 cattgtggag atccagggca ttccggatca agtgaaagcc gcacagagcc ttctgcaagg 4500  
 cttcatcggc gcaagcagca acagcaggca ggcgccccag tcctctcgca tggcccatta 4560  
 tttttagtaa gctggaggac attcgcaaca ggggggtcag tggtcactgc aaagctgagt 4620  
 ttgttcttca gticaactgc agaaaattgc agatcggttg ccgtagttgc tagaacggtg 4680  
 catagtggcc acctaaactgt agcgagtggc ataacttatt gtgtgttact gcccaatgtt 4740  
 gtctctcctt gtgttcatgg attcagactt gtgattgtag tatttctgga tcagactgga 4800  
 gtaaaagaaa aaaaaaaagg aagacatggg tttacagta agctcaaac gttgacagta 4860  
 gtaaaataaa aggggtttgt tcactttaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4920  
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4978

&lt;210&gt; 73

&lt;211&gt; 4722

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; rice

&lt;400&gt; 73

cgccgatctc ctacaccatc cctgccatct cctccttccc ctccccctcta tcttccactg 60  
gtgccgcccac cctctccgta taagacaaac tgcgttgagg cgttggtttc cgccggcgct 120  
gctgctgcac ctgtcagcta gggcgggcat ggcgcgccgc gccgcttccc gcgctgttgg 180  
cgcccttcgc tcggacggct cgatccaagg gcgaggaggc cgcgcggggg gcagtggcgc 240  
cgaggacgca cgccacgtgt tcgacgaatt gctccgccgt ggcagggggc cctcgatcta 300  
cggttgaac cgcgccctcg ccgacgtcgc gcgtgacagc cccgcggccg ccgtgtcccg 360  
ctacaaccgc atggcccagc ccggcgccga cgaggtaact cccgacttgt gcacctacgg 420  
cattctcatc ggttgctgct gccgcgcggg ccgcttgac ctcggtttcg cggccttggg 480  
caatgtcatt aagaaggat ttagagtga gccatcgcc ttactcctc tgctcaaggg 540  
cctctgtgcc gacaagagga cgagcgacgc aatggacata gtgctccgca gaatgaccga 600  
gctcggctgc ataccaaatg tcttctccta caatattctt ctcaaggggc tgtgtgatga 660  
gaacagaagc caagaagctc tcgagctgct gcacatgatg gctgatgatc gaggaggagg 720  
tagcccacct gatgtggtgt cgtataccac tgctcatcaat ggcttcttca aagaggggga 780  
ttcagacaaa gcttacagta cataccatga aatgctggac cgggggattt tacctgatgt 840  
tgtgacctac aactctatta ttgctgcgtt atgcaaggct caagctatgg acaaagccat 900  
ggaggctactt aacaccatgg ttaagaatgg tgtcatgcct gattgcatga catataatag 960  
tattctgcat ggatattgct cttcaggga gccgaaagag gctattggat ttctcaaaaa 1020  
gatgcgcagt gatggtgtcg aaccagatgt tgttacttat agcttgctca tggattatct 1080  
ttgcaagaac ggaagatgca tggaagctag aaagattttc gattctatga ccaagagggg 1140  
cctaaagcct gaaattacta cctatggtac cctgcttcag gggtatgcta ccaaaggagc 1200  
ccttggtgag atgcatggtc tcttggattt gatggtacga aacggatatcc accctgatca 1260  
ttatgttttc agcattctaa tatgtgcata cgctaaacaa gggaaagtag atcaggcaat 1320  
gcttggtgtc agcaaaatga ggcagcaagg attgaatccg aatgcagtga cgtatggagc 1380  
agttataggc atactttgca agtcaggcag agtagaagat gctatgcttt attttgagca 1440

gatgatcgat gaaggactaa gccctggcaa cattgtttat aactccctaa ttcattggttt 1500  
 gtgcacctgt aacaaatggg agagggtga agagttaatt cttgaaatgt tggatcgagg 1560  
 catctgtctg aacactatct tctttaattc aataattgac agtcattgca aagaaggag 1620  
 ggttatagaa tctgaaaaac tctttgagct gatggtacgt attggtgtga agcccaatgt 1680  
 cattacctac aatactctta tcaatggata ttgcttggca ggtaagatgg atgaagcaat 1740  
 gaagttactt tctggcatgg tctcagttgg gttgaaacct aatactgtta cttatagcac 1800  
 tttgattaat ggctactgca aaattagtag gatggaagac gcgttagttc tttttaagga 1860  
 gatggagagc agtgggtgta gtcctgatat tattacgtat aacataattc tgcaagggtt 1920  
 atttcaaacc agaagaactg ctgctgcaaa agaactctat gttaggatta ccgaaagtgg 1980  
 aacgcagatt gaacttagca catacaacat aatccttcat ggactttgca aaaacaaact 2040  
 cactgatgat gcacttcaga tgtttcagaa cctatgtttg atggatttga agcttgaggc 2100  
 taggactttc aacattatga ttgatgcatt gcttaaagtt ggcagaaatg atgaagccaa 2160  
 ggatttggtt gttgctttct cgtctaacgg tttagtgccg aattattgga cgtacaggtt 2220  
 gatggctgaa aatattatag gacaggggtt gctagaagaa ttggatcaac tctttctttc 2280  
 aatggaggac aatggctgta ctgttgactc tggcatgcta aatttcattg ttagggaact 2340  
 gttgcagaga ggtgagataa ccagggtggt cacttacctt tccatgattg atgagaagca 2400  
 cttttccctc gaagcatcca ctgcttcctt gtttatagat cttttgtctg ggggaaaata 2460  
 tcaagaatat tataggtttc tccctgaaaa atacaagtc tttatagaat ctttgagctg 2520  
 ctgaagcatt ttgcagcttt gaaattctgt gttggaattc ttttctcta cagtcctatt 2580  
 agaggaggga tcttctctgt atgtgtaa atgcagtttg aatgctagt gaagctcctt 2640  
 tgaccatgtt ttgttgctg agcatttaag agagtgaaga gaatgcttct ttggtgctgt 2700  
 tctggtatgg aaggatccac agataaaatt caggttctac tgcttctctg cttgtaattt 2760  
 tcatgaagct gcagtgaata cttgttgac cacttgatct gttgctttga aggagaatat 2820  
 agtagtgccc aaggttggtg acggtgatgg tggcatgtga tccccagat cttcagtgc 2880  
 ccagagagga ggggacggcg cgtggtgagc tacaaggcat actcagtga gggcaagatc 2940  
 aaggcctccc gtccgtaggg gactccgctg catcaaggcc aactgctccg aactgatcaa 3000  
 tttctggtgc agacaggtgc ttgcggtcag gttaaagaag ttggcaaaaa tgcttctgaa 3060  
 gaaagggtta ttgttgtttc atctcaggag attccagatg atccagtgc tccaacaatt 3120  
 gaggcgctta ttttgctcca tagtaaagt gaaaggta at tactgaaatg agaagacgga 3180

ctggggctga aatccgagtc tactcaaaag cagataaacc taagtacctg tcttttgatg 3240  
 aggagcttgt gcaggttgct gggcttccag ctattgaaag aggagccctg acagagattg 3300  
 cttcgaggct ttgaactagg acactcagag atggaagtgc ttccaataat ccgacacctt 3360  
 ttgcccctgt tgatggtcct cctgttgata tcttgccata caaggaattc atgctatatg 3420  
 gacgatctgc taatagtccc ccatatggag ggcctgctaa tgatccacca tatggaagac 3480  
 ctgccattga tccaccatat ggaagaccaa tatccacaat atggaagacc tgccaatgat 3540  
 ccaccatata gaagacctgt caatgataca tcatattgag ggttgaacaa tgatgggcct 3600  
 cgtgatcagg cccggctcctg aggggggctg aatggggcga tcgctccggg ccccccatt 3660  
 cccaggggccc ccacctatct gtgcaacgag tagtagcgat cttccagcgc gcaacgtgag 3720  
 gcgatgtttc tccgtgattt cgccggcctg caactgcgag atcgcgagta taacgatcag 3780  
 ccgatcgatc tcatctgccg actgccatgc tgatgccaca cgcaagcgca gcatatcagc 3840  
 cttatcttgg ttgatcggca tgctggacga gcacatctgt tgcgcatca actgctgact 3900  
 gctatatatg tgctggtgct gaatcgatcg attgtcgtca cggaagtga gaacaaccac 3960  
 ggcactgctg cctgctgggc tctagccgcc atcagctgcg gagctgatcc atggacgtga 4020  
 ggattaccga agactgtcag gtctcactgg gtatccaggt ggctctgtcg aattgtggat 4080  
 tccaaatagt taactggagt ctgtcattgg tgttggtggt gtcaatctag ctgagatccg 4140  
 tctggtatag cgtaagagaa acatcatgca ctatccccag tcataacat gccccaatgg 4200  
 ccaccaatag ttttcctcgt gaaaatctcc cttgatccc agatctctgg tgcgagagt 4260  
 aagttgcacg aagcccatcc tggttcttcc gagtccattg tggagatcca gggcattccg 4320  
 gatcaagtga aagccgcaca gagccttctg caaggcttca tcggcgcaag cagcaacagc 4380  
 aggcaggcgc cccagtcctc tcgcatggcc cattatcttt agtaagctgg aggacattcg 4440  
 caacaggggg gtcagtggtc actgcaaagc tgagtttggt cttcagttca actgcagaaa 4500  
 attgcagatc ggttgccgta gttgctagaa cggtacatag ttgccaccta actgtagcga 4560  
 gtggcataac ttattgtgtg ttactgcca atgttgtctc tccttggtt catggattca 4620  
 gacttgatgat ttagtattt ctggatcaga ctggagtaaa agaaaaaaaa aaaggaagac 4680  
 atgggtttta cagtaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aa 4722

&lt;210&gt; 74

&lt;211&gt; 6164



&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; rice

&lt;400&gt; 74

cgcagaagag atcgatcgcg atctccctgc cccgacgtcg ccggccgacg tctcattctc 60  
 tccacgccct gctcgtcgcc gatctcctac accatccctg ccatctcctc ctccccctcc 120  
 cctctatcct ccactgggtgc cgccccacctc tccgtataag acaaactgcg ttgcggcggtt 180  
 ggtttccgcc ggcgctgctg ctgcacctgt cagctagggc ggcatggcg cgccgcgccc 240  
 ctccccgcgc tgttggcgcc cttcgctcgg acggctcgat ccaagggcga ggaggccgcg 300  
 cggggggcag tggcgccgag gacgcacgcc acgtgttcga cgaattgctc cgccgtggca 360  
 ggggcgccctc gatctacggc ttgaaccgcg ccctcgccga cgtcgcgcgt gacagccccg 420  
 cggccgccgt gtcccgctac aaccgcatgg cccgagccgg cgccgacgag gtaactcccg 480  
 acttgtgcac ctacggcatt ctcatcggtt gctgctgccg cgccggccgc ttggacctcg 540  
 gtttcgcggc cttgggcaat gtcattaaga agggatttag agtggacgcc atgccttca 600  
 ctctctgct caagggcctc tgtgccgaca agaggacgag cgacgcaatg gacatagtgc 660  
 tccgcagaat gaccgagctc ggctgcatac caaatgtctt ctctacaat attcttctca 720  
 aggggctgtg tgatgagaac agaagccaag aagctctcga gctgctgcac atgatggctg 780  
 atgatcgagg aggaggtagc ccacctgatg tgggtgctga taccactgtc atcaatggct 840  
 tcttcaaaga gggggattca gacaaagctt acagtacata ccatgaaatg ctggaccggg 900  
 ggattttacc tgatgtttg acctacaact ctattattgc tgcgttatgc aaggctcaag 960  
 ctatggacaa agccatggag gtacttaaca ccatggttaa gaatgggtgc atgcctgatt 1020  
 gcatgacata taatagtatt ctgcatggat attgctcttc agggcagccg aaagaggcta 1080  
 ttggatttct caaaaagatg cgcagtgatg gtgtcgaacc agatgttgtt acttatagct 1140  
 tgctcatgga ttatctttgc aagaacggaa gatgcatgga agctagaaag attttcgatt 1200  
 ctatgaccaa gaggggccta aagcctgaaa ttactaccta tggtagcctg cttcaggggt 1260  
 atgctaccaa aggagccctt gttgagatgc atggctctctt ggatttgatg gtacgaaacg 1320  
 gtatccaccc tgatcattat gttttcagca ttctaataatg tgcatacgtt aaacaaggga 1380  
 aagtagatca ggcaatgctt gtgttcagca aaatgaggca gcaaggattg aatccgaatg 1440  
 cagtgcgta tggagcagtt ataggcatac tttgcaagtc aggcagagta gaagatgcta 1500  
 tgctttatct tgagcagatg atcgatgaag gactaagccc tggcaacatt gtttataact 1560

ccctaattca tggtttgtgc acctgtaaca aatgggagag ggctgaagag ttaattcttg 1620  
 aaatgttga tgcaggcatc tgtctgaaca ctattttctt taattcaata attgacagtc 1680  
 attgcaaaga agggagggtt atagaatctg aaaaactctt tgagctgatg gtacgtattg 1740  
 gtgtgaagcc caatgtcatt acctacaata ctcttatcaa tggatattgc ttggcaggta 1800  
 agatggatga agcaatgaag ttactttctg gcatggcttc agttgggttg aaacctaata 1860  
 ctgttactta tagcactttg attaatggct actgcaaaaat tagtaggatg gaagacgcgt 1920  
 tagttctttt taaggagatg gagagcagtg gtgttagtcc tgatattatt acgtataaca 1980  
 taattctgca aggtttatth caaacagaa gaactgctgc tgcaaaagaa ctctatgtta 2040  
 ggattaccga aagtggaaag cagattgaac ttagcacata caacataatc ctcatggac 2100  
 tttgcaaaaa caaactcact gatgatgcac ttcagatgtt tcagaaccta tgtttgatgg 2160  
 atttgaagct tgaggctagg actttcaaca ttatgattga tgcattgctt aaagttggca 2220  
 gaaatgatga agccaaggat ttgtttgttg ctttctcgtc taacggttta gtgccgaatt 2280  
 attggacgta caggttgatg gctgaaaata ttataggaca ggggttgcta gaagaattgg 2340  
 atcaactctt tctttcaatg gaggacaatg gctgtactgt tgactctggc atgctaaatt 2400  
 tcattgttag ggaactgttg cagagagggt agataaccag ggctggcact tacctttcca 2460  
 tgattgatga gaagcacttt tccctgaag catccactgc ttccttgttt atagatcttt 2520  
 tgtctggggg aaaatatcaa gaatattata ggtttctccc tgaaaaatac aagtccttta 2580  
 tagaatcttt gagctgctga agcattttgc agctttgaaa ttctgtgttg gaattctttt 2640  
 ctctacagt cctattagag gagggatctt ctctgtatgt gtaaatacg aggtatgtat 2700  
 gccaccttc cgaattatth ttactgtgtt tcttagactg taaacaagca attatgttat 2760  
 gctgttgatg ccagaaaaaa cataaaagtt tgtcgttatt tctactaacg gatcataaag 2820  
 ggatttgtga ctggagtttc aaacttaatg tgtctaggca gtaattttga cattagatcc 2880  
 aaaacaattt atagggttth attaaatttc atctatgtgt actgtttagg tgttgaatag 2940  
 tttgacttgt tttttaactg aacaaaagat atgtctgaag ctttgttctt taccaaagtc 3000  
 agtactgac atcacaatat attttttatg gaacaagatt ggattgtata gaatggttc 3060  
 tgatctgatt atcttatctc aacgtattat tatgcacatg tactaatcat gaaatatctg 3120  
 atggaatgat gtttctatth acctgtgtga ggcagcaagg agtgagatgg ataacaccac 3180  
 atactccctc tgtcccagaa tataagaagt tttagagttg gacacgatta ttaagaaagt 3240  
 aggtagaagt gagtagtgga gggttgtgat tgcatgagta gtggaggtag gtgggaaaag 3300

tgaatggtgg agggttgtga ttggttggga agagaatggt gtagagaag ttgttatatt 3360  
 ttggggagta cattattatt ctagaacaat actgttgtgc tcaagaagcg ttccaaagat 3420  
 gtttcacaac ctgtgctcga tgggttttga gcttaatcct gggacattca gtatcatgat 3480  
 ctgtctcatt cttaaacaat gaataaagga tgacagcatg atttctttgt ctctataatc 3540  
 ttttggttac ccacagataa tagctgtaaa tctatactac tttaaaagga gtagtggtgg 3600  
 tggtagagtgg tgaatctgcc accacccac caccaactct caaaattctg acatgtggga 3660  
 tcactgtcaa tcccttctcc aagacatgtg ggatcactgt caatcccttc tccaaaccaa 3720  
 ttgtatgata gaacagtggga aatcacggac agaccatgga gctctcaacc ataatcatcc 3780  
 ttgcgagtta ataacaaatg gagcgtaaac ttggcaagca aaaaactcaa attaattcta 3840  
 aaattaagct ctaggattca aaatagattt cctctctgca ttgtgctgtt atgattttta 3900  
 attccgtaac aacgcaaatg cattttgcta gtcttataaa gaagggttaa tgcaaattatt 3960  
 ctgattaaat gattgtatct atgaagtttg aatgctagtg gaagctcctt tgaccatgtt 4020  
 ttgttgtcgc agcatttaag agagtgaaga gaatgcttct ttggtgctgt tctggtatgg 4080  
 aaggatccac agataaaatt caggttctac tgcttctctg cttgtaattt tcatgaagct 4140  
 gcagtgaata ccttggtgac cacttgatct gttgcttga aggagaatat agtagtggcc 4200  
 aaggttggtg acggtgatgg tggcatgtga tccccagat cttcagtgc ccagagagga 4260  
 ggggacggcg cgtggtgagc tacaaggcat actcagtgga gggcaagatc aaggcctccc 4320  
 gtccgtaggg gactccgctg catcaaggcc aactgctccg aactgatcaa tttctggtgc 4380  
 agacaggtgc ttgcggtcag gttaaagaag ttggcaaaaa tgcttctgaa gaaagggttaa 4440  
 ttgttgtttc atctcaggag attccagatg atccagtgtc tccaacaatt gaggcgctta 4500  
 ttttgctcca tagtaaagta agtacacttg ctgagaacca ccagttgaca acacggcttg 4560  
 ttgtaccatc aaacaaagtt ggttgtattc ttggggaagg tggaaaggta attactgaaa 4620  
 tgagaagacg gactggggct gaaatccgag tctactcaa agcagataaa cctaagtacc 4680  
 tgtcttttga tgaggagctt gtgcaggttg ctgggcttcc agctattgaa agaggagccc 4740  
 tgacagagat tgcttcgagg ctttgaacta ggacactcag agatggaagt tcttccaata 4800  
 atccgacacc ttttgccct gttgatggc ctcctgttga tatcttgctt aacaaggaat 4860  
 tcatgctata tggacgatct gctaatagtc ccccatatgg agggcctgct aatgatccac 4920  
 catatggaag acctgccatt gatccaccat atggaagacc aatatccaca atatggaaga 4980  
 cctgccaatg atccaccata tagaagacct gtcaatgata catcatattg agggttgaac 5040

aatgatgggc ctctgatca ggcccgggtcc tgaggggggt cgaatggggc gatcgctccg 5100  
ggccccccga ttcccagggc cccacacctat ctgtgcaacg agtagtagcg atcttccagc 5160  
gcgcaacgtg aggcgatgtt tctccgtgat ttccgcccgc tgcaactgcg agatcgcgag 5220  
tataacgata agccgatcga tctcatctgc cgactgccat gctgatgcc aacgcaagcg 5280  
cagcatatca gccttatctt ggttgatcgg catgctggac gagcacatct gttgtcgcg 5340  
caactgctga ctgctatata tgtgctgggtg ctgaatcgat cgattgtcgt cacggaagtg 5400  
aagaacaacc acggcactgc tgcctgctgg gctctagccg ccatcagctg cggagctgat 5460  
ccatggacgt gaggattacc gaagactgtc aggtctcact gggatatccag gtggctctgt 5520  
cgaattgtgg attccaaata gttaactgga gtctgtcatt ggtgttggtg gtgtcaatct 5580  
agctgagatc cgtctgggtat agcgtgaagag aaacatcatg cactatcccc agtcataacc 5640  
atgccccaat ggccaccaat agttttcctc gtgaaaatct ccccttgatc ccagatctct 5700  
ggtgcgagag tgaagttgca cgaagcccat cctggttctt ccgagtccat tgtggagatc 5760  
cagggcattc cggatcaagt gaaagccgca cagagccttc tgcaaggctt catcggcgca 5820  
agcagcaaca gcaggcaggc gcccaggtcc tctcgcatgg cccattatct ttagtaagct 5880  
ggaggacatt cgcaacaggg gggtcagtgg tcaactgcaa gctgagtttg ttcttcagtt 5940  
caactgcaga aaattgcaga tcggttgccg tagttgctag aacggtacat agttgccacc 6000  
taactgtagc gagtggcata acttattgtg tgttactgcc caatgttgct tctccttggtg 6060  
ttcatggatt cagacttggt attgtagtat ttctggatca gactggagta aaagaaaaaa 6120  
aaaaaggaag acatgggttt aacagtaaaa aaaaaaaaaa aaaa 6164

<210> 75

<211> 791

<212> PRT

<213> rice

<400> 75

Met Ala Arg Arg Ala Ala Ser Arg Ala Val Gly Ala Leu Arg Ser

1 5 10 15

Asp Gly Ser Ile Gln Gly Arg Gly Gly Arg Ala Gly Gly Ser Gly

20 25 30

Ala Glu Asp Ala Arg His Val Phe Asp Glu Leu Leu Arg Arg Gly	35	40	45
Arg Gly Ala Ser Ile Tyr Gly Leu Asn Arg Ala Leu Ala Asp Val	50	55	60
Ala Arg Asp Ser Pro Ala Ala Ala Val Ser Arg Tyr Asn Arg Met	65	70	75
Ala Arg Ala Gly Ala Asp Glu Val Thr Pro Asp Leu Cys Thr Tyr	80	85	90
Gly Ile Leu Ile Gly Cys Cys Cys Arg Ala Gly Arg Leu Asp Leu	95	100	105
Gly Phe Ala Ala Leu Gly Asn Val Ile Lys Lys Gly Phe Arg Val	110	115	120
Asp Ala Ile Ala Phe Thr Pro Leu Leu Lys Gly Leu Cys Ala Asp	125	130	135
Lys Arg Thr Ser Asp Ala Met Asp Ile Val Leu Arg Arg Met Thr	140	145	150
Glu Leu Gly Cys Ile Pro Asn Val Phe Ser Tyr Asn Ile Leu Leu	155	160	165
Lys Gly Leu Cys Asp Glu Asn Arg Ser Gln Glu Ala Leu Glu Leu	170	175	180
Leu His Met Met Ala Asp Asp Arg Gly Gly Gly Ser Pro Pro Asp	185	190	195
Val Val Ser Tyr Thr Thr Val Ile Asn Gly Phe Phe Lys Glu Gly	200	205	210
Asp Ser Asp Lys Ala Tyr Ser Thr Tyr His Glu Met Leu Asp Arg	215	220	225
Gly Ile Leu Pro Asp Val Val Thr Tyr Asn Ser Ile Ile Ala Ala	230	235	240
Leu Cys Lys Ala Gln Ala Met Asp Lys Ala Met Glu Val Leu Asn			

245	250	255
Thr Met Val Lys Asn Gly Val Met Pro Asp Cys Met Thr Tyr Asn		
260	265	270
Ser Ile Leu His Gly Tyr Cys Ser Ser Gly Gln Pro Lys Glu Ala		
275	280	285
Ile Gly Phe Leu Lys Lys Met Arg Ser Asp Gly Val Glu Pro Asp		
290	295	300
Val Val Thr Tyr Ser Leu Leu Met Asp Tyr Leu Cys Lys Asn Gly		
305	310	315
Arg Cys Met Glu Ala Arg Lys Ile Phe Asp Ser Met Thr Lys Arg		
320	325	330
Gly Leu Lys Pro Glu Ile Thr Thr Tyr Gly Thr Leu Leu Gln Gly		
335	340	345
Tyr Ala Thr Lys Gly Ala Leu Val Glu Met His Gly Leu Leu Asp		
350	355	360
Leu Met Val Arg Asn Gly Ile His Pro Asp His Tyr Val Phe Ser		
365	370	375
Ile Leu Ile Cys Ala Tyr Ala Lys Gln Gly Lys Val Asp Gln Ala		
380	385	390
Met Leu Val Phe Ser Lys Met Arg Gln Gln Gly Leu Asn Pro Asn		
395	400	405
Ala Val Thr Tyr Gly Ala Val Ile Gly Ile Leu Cys Lys Ser Gly		
410	415	420
Arg Val Glu Asp Ala Met Leu Tyr Phe Glu Gln Met Ile Asp Glu		
425	430	435
Gly Leu Ser Pro Gly Asn Ile Val Tyr Asn Ser Leu Ile His Gly		
440	445	450
Leu Cys Thr Cys Asn Lys Trp Glu Arg Ala Glu Glu Leu Ile Leu		
455	460	465

Glu Met Leu Asp Arg Gly Ile Cys Leu Asn Thr Ile Phe Phe Asn

470 475 480

Ser Ile Ile Asp Ser His Cys Lys Glu Gly Arg Val Ile Glu Ser

485 490 495

Glu Lys Leu Phe Glu Leu Met Val Arg Ile Gly Val Lys Pro Asn

500 505 510

Val Ile Thr Tyr Asn Thr Leu Ile Asn Gly Tyr Cys Leu Ala Gly

515 520 525

Lys Met Asp Glu Ala Met Lys Leu Leu Ser Gly Met Val Ser Val

530 535 540

Gly Leu Lys Pro Asn Thr Val Thr Tyr Ser Thr Leu Ile Asn Gly

545 550 555

Tyr Cys Lys Ile Ser Arg Met Glu Asp Ala Leu Val Leu Phe Lys

560 565 570

Glu Met Glu Ser Ser Gly Val Ser Pro Asp Ile Ile Thr Tyr Asn

575 580 585

Ile Ile Leu Gln Gly Leu Phe Gln Thr Arg Arg Thr Ala Ala Ala

590 595 600

Lys Glu Leu Tyr Val Arg Ile Thr Glu Ser Gly Thr Gln Ile Glu

605 610 615

Leu Ser Thr Tyr Asn Ile Ile Leu His Gly Leu Cys Lys Asn Lys

620 625 630

Leu Thr Asp Asp Ala Leu Gln Met Phe Gln Asn Leu Cys Leu Met

635 640 645

Asp Leu Lys Leu Glu Ala Arg Thr Phe Asn Ile Met Ile Asp Ala

650 655 660

Leu Leu Lys Val Gly Arg Asn Asp Glu Ala Lys Asp Leu Phe Val

665 670 675

Ala Phe Ser Ser Asn Gly Leu Val Pro Asn Tyr Trp Thr Tyr Arg

680	685	690
Leu Met Ala Glu Asn Ile Ile Gly Gln Gly Leu Leu Glu Glu Leu		
695	700	705
Asp Gln Leu Phe Leu Ser Met Glu Asp Asn Gly Cys Thr Val Asp		
710	715	720
Ser Gly Met Leu Asn Phe Ile Val Arg Glu Leu Leu Gln Arg Gly		
725	730	735
Glu Ile Thr Arg Ala Gly Thr Tyr Leu Ser Met Ile Asp Glu Lys		
740	745	750
His Phe Ser Leu Glu Ala Ser Thr Ala Ser Leu Phe Ile Asp Leu		
755	760	765
Leu Ser Gly Gly Lys Tyr Gln Glu Tyr Tyr Arg Phe Leu Pro Glu		
770	775	780
Lys Tyr Lys Ser Phe Ile Glu Ser Leu Ser Cys		
785	790	791

&lt;210&gt; 76

&lt;211&gt; 24

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Oligonucleotide primer for amplification

&lt;400&gt; 76

tctcattctc tccagccct gctc 24

&lt;210&gt; 77

&lt;211&gt; 24

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; artificial sequence



<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 77

acggcggagc aattcgtcga acac 24

<210> 78

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 78

agtgtgtggc atggtgcatt tccg 24

<210> 79

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 79

ctctacagga tacacggtgt aagg 24

# 【図面の簡単な説明】

## 【図 1】

図 1 は、RFLP マーカー座 S 1 2 5 6 4 を起点とする染色体歩行の結果を示す。

## 【図 2】

図 2 は、BAC クローン A C 0 6 8 9 2 3 とラムダクローンコンティグとの位

置関係を示す。

【図 3】

図 3 は、R f - 1 座極近傍組換え型花粉（いずれも稔性あり）の R f - 1 座極近傍の染色体構成を、その花粉から生じた 1 0 個体（R S 1、R S 2、R C 1 - 8）のマーカースの遺伝子型に基づき、明らかにした結果を示したものである。白抜き部分はジャポニカ型領域を、黒部分はインディカ型領域を示す。

【図 4】

図 4 は、第 1 0 染色体上のマーカースと R f - 1 座との連鎖分析の結果に基づき、R f - 1 座の連鎖地図上での位置を示したものである。地図距離は、1 0 4 2 F 1 個体の分離データから算出した。

【図 5】

図 5 は、相補性試験による R f - 1 領域の同定のために使用した、1 0 個のゲノムクローン由来の断片を示す。染色体歩行により得られた 8 クローン（細い線）を用いて、太い直線で示した染色体領域について相補性試験を行った。X S F 1 8 は、欠失を含むクローンであることが分かったので、その欠失部分は点線で示した。

【図 6】

図 6 は、X S G 1 6 由来の 1 5 . 7 k b（実施例 1 0）及び X S F 1 8 由来の 1 6 . 2 k b 断片（実施例 8）を用いた相補性試験の結果を示す。X S G 1 6 由来の 1 5 . 7 k b では稔性が回復し、稲穂がたれている。

【図 7】

図 7 は、R f - 1 遺伝子構造の模式図を示す。白棒部分および黒線部分は、それぞれエキソンおよびイントロンを示す。エキソン部分については、塩基対数を示してある。

【書類名】

図面

【図 1】

RFLP Probe (S12564)

□

Probe A ■    Probe B ■    Probe F ■    Probe G ■    Probe H ■



図 1. RFLP マーカー S12564 を起点とする染色体歩行

【図2】

あそみのりコンティグ



IR24コンティグ



AC068923

---

図2. BACクローンAC068923とラムダクローンコンティグの位置関係

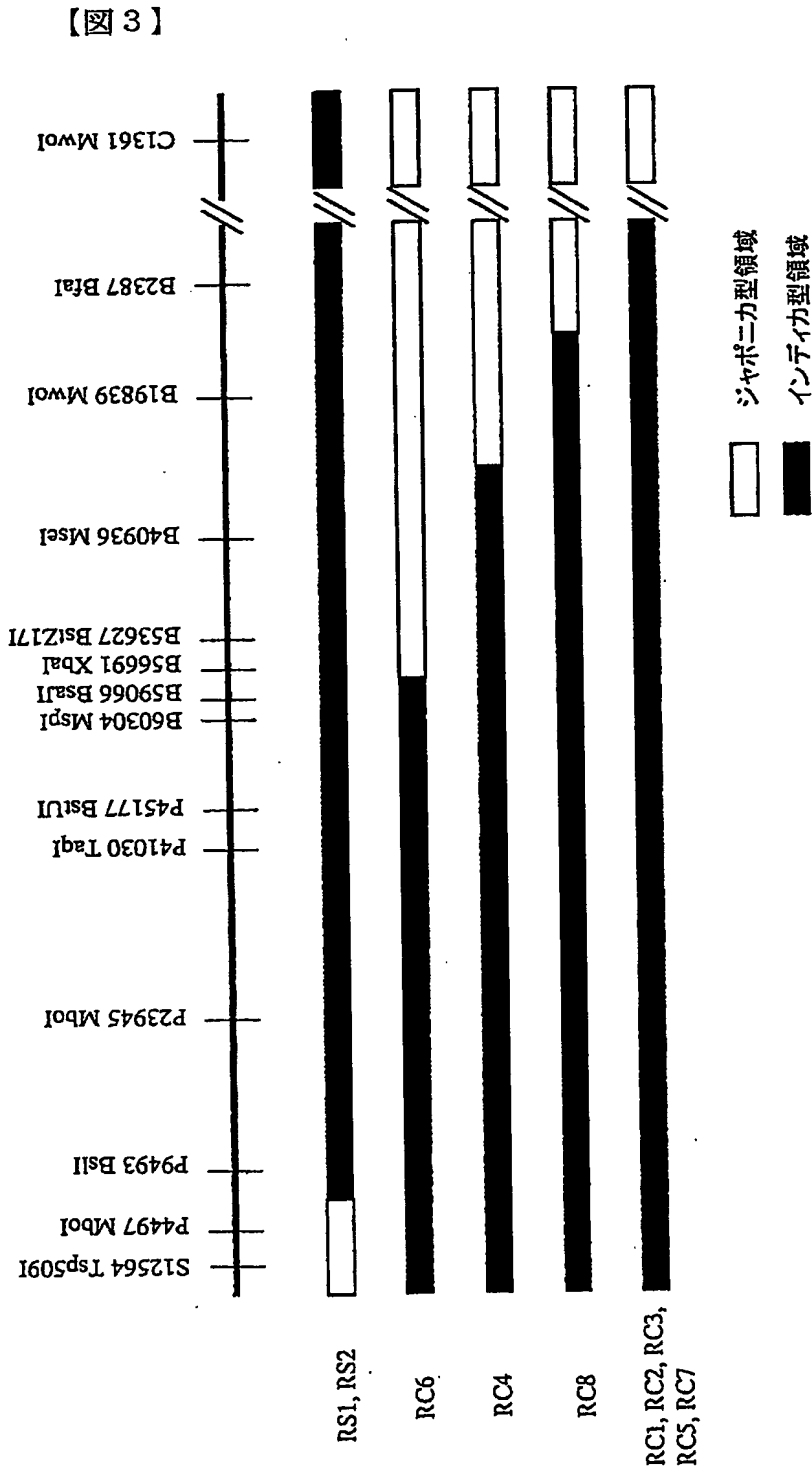


図3. 稔性のある組換え型花粉のRf-1座周辺染色体構成

【図4】

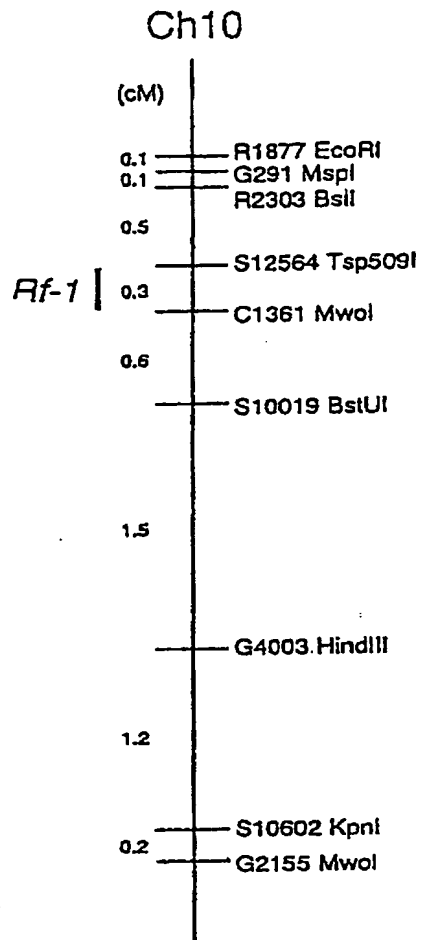


図4 Rf-1座の推定座乗位置

地図距離は1042F1個体の分離データから算出した。

【図 5】

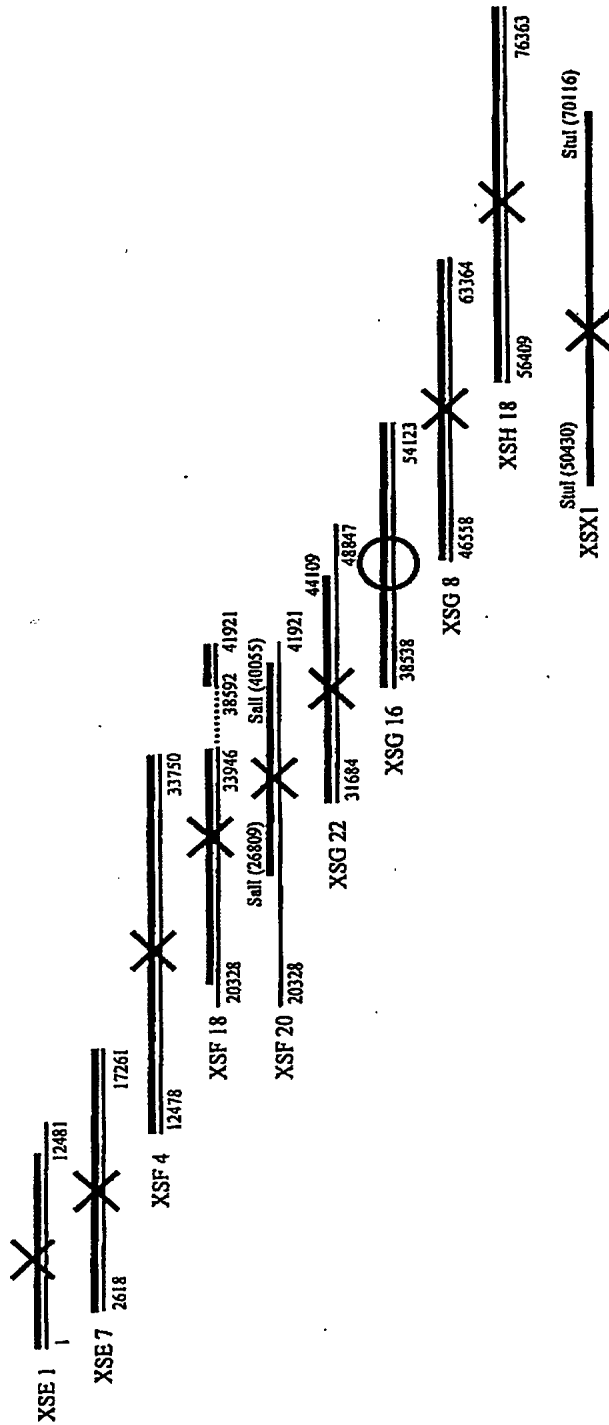
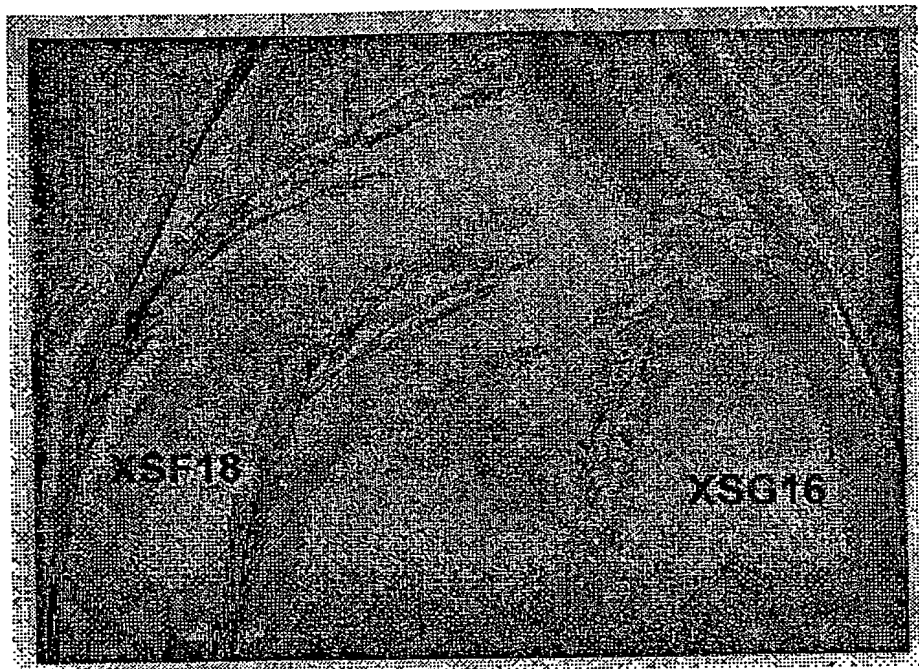


図5. 相補性試験によるRf-1領域の同定

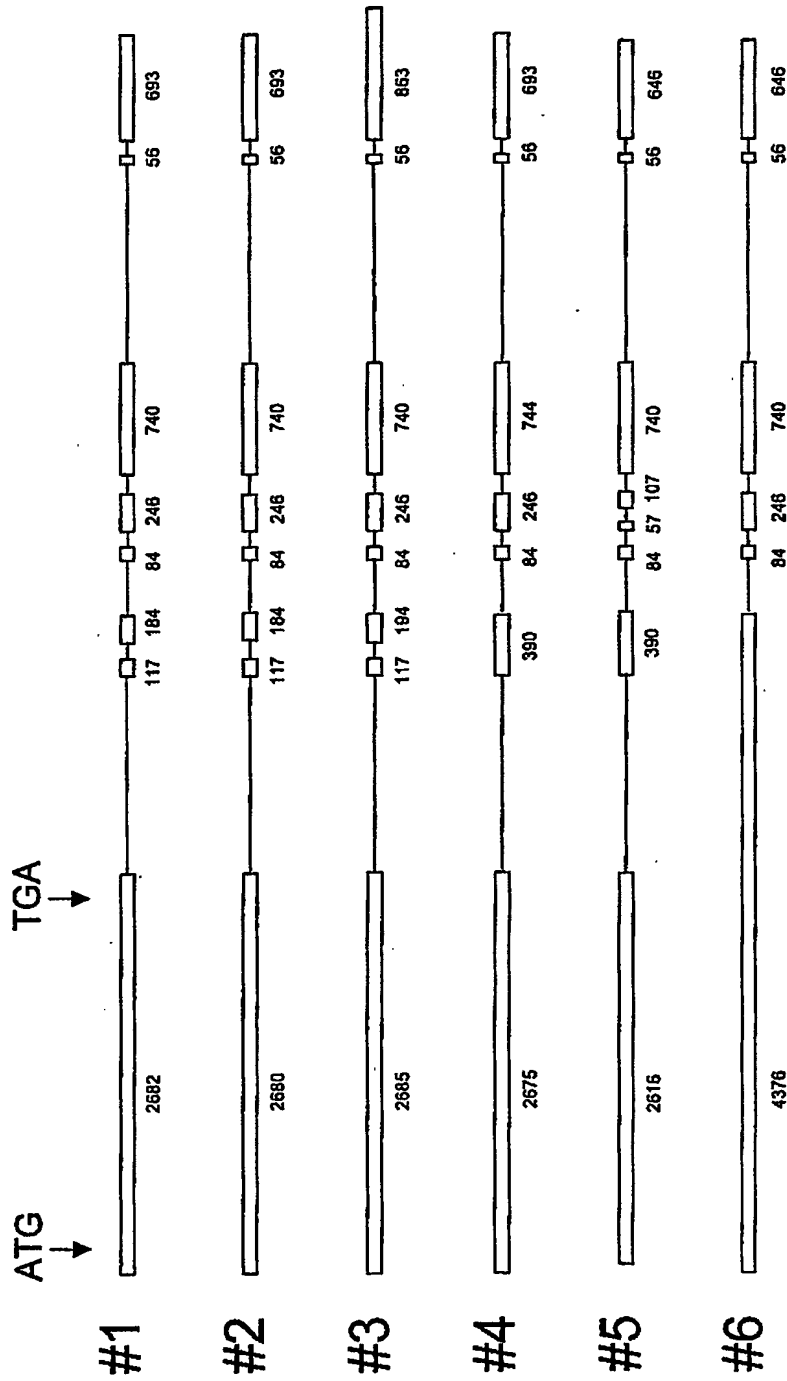
図面の簡単な説明: 染色体歩行により得られたスクローン(細い直線)を用いて、太い直線で示した染色体領域について相補性試験を行った。XSF18は欠失を含むクロンであることが分かったので、その欠失部分は点線で示した。

【図6】





【図 7】



# Rf-1遺伝子構造の模式図

白棒部分および黒線部分は、それぞれ、エキソンおよびイントロンを示す。  
エキソン部分については、塩基対数を示してある。

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 本発明は、イネBT型雄性不稔細胞質に対する稔性回復遺伝子を提供することを目的とする。

【解決手段】 本発明の遺伝子は、配列番号75のアミノ酸配列、又は配列番号75のアミノ酸配列と少なくとも70%同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸を含む。本発明の遺伝子は、好ましくは配列番号69-74、又は配列番号27の塩基43907-46279に記載の塩基配列を有する。

【選択図】 なし

認定・付加情報

特許出願の番号	特願2002-197560
受付番号	50200990693
書類名	特許願
担当官	第五担当上席 0094
作成日	平成14年 7月 8日

<認定情報・付加情報>

【特許出願人】

【識別番号】	000004569
【住所又は居所】	東京都港区虎ノ門二丁目2番1号
【氏名又は名称】	日本たばこ産業株式会社

【特許出願人】

【識別番号】	501008820
【住所又は居所】	イギリス国 サリー, ジーユー27 3ジェイイー, ヘーゼルミア, ファーンハースト
【氏名又は名称】	シンジェンタ リミテッド

【代理人】

【識別番号】	申請人
【住所又は居所】	100089705
【氏名又は名称】	東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区 ユアサハラ法律特許事務所
	社本 一夫

【選任した代理人】

【識別番号】	100076691
【住所又は居所】	東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区 ユアサハラ法律特許事務所
【氏名又は名称】	増井 忠式

【選任した代理人】

【識別番号】	100075270
【住所又は居所】	東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区 ユアサハラ法律特許事務所
【氏名又は名称】	小林 泰

【選任した代理人】

【識別番号】	100080137
【住所又は居所】	東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区 ユアサハラ法律特許事務所

次頁有

認定・付加情報 (続き)

【氏名又は名称】	千葉 昭男
【選任した代理人】	
【識別番号】	100096013
【住所又は居所】	東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町 ビル206区 ユアサハラ法律特許事務所
【氏名又は名称】	富田 博行
【選任した代理人】	
【識別番号】	100107386
【住所又は居所】	東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町 ビル206区 ユアサハラ法律特許事務所
【氏名又は名称】	泉谷 玲子

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000004569]

1. 変更年月日	1995年 5月16日
[変更理由]	住所変更
住 所	東京都港区虎ノ門二丁目2番1号
氏 名	日本たばこ産業株式会社

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [501008820]

1. 変更年月日 2001年 1月 5日  
 [変更理由] 新規登録  
 住 所 イギリス国 サリー, ジーユー27 3ジェイイー, ハーゼル  
 ミア, ファーンハースト  
 氏 名 シンジェンタ リミテッド
  
2. 変更年月日 2002年11月 8日  
 [変更理由] 住所変更  
 住 所 イギリス国サリー ジーユー2 7ワイエイチ, ギルドフォー  
 ド, サリー・リサーチ・パーク, プリーストリー・ロード, ヨ  
 ーロピアン・リージョナル・センター  
 氏 名 シンジェンタ リミテッド

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**